
ANNALES DE L'INSTITUT PASTEUR

CONTRIBUTION

A L'ÉTUDE DE LA MALADIE INFECTIEUSE DES PORCS

CONNUE SOUS LES NOMS DE

HOG-CHOLÉRA, SVINPEST, PNEUMO-ENTÉRITE INFECTIEUSE

PAR M. LE D^r SELANDER, DE STOCKOLM.

(Travail du laboratoire de M. Roux à l'Institut Pasteur,)

Il y a environ deux ans que j'ai publié le résumé de quelques expériences sur le microbe qui cause la maladie infectieuse des porcs, appelée en Suède *svinpest* ¹. Cette affection est sans doute identique avec celle que M. Salmon a décrite sous le nom de *hog-choléra*, et que MM. Cornil et Chantemesse ont étudiée sous celui de pneumo-entérite des porcs. Les savants que je viens de citer partagent aussi cette opinion. M. Salmon, qui a eu l'occasion de faire des expériences comparatives avec le bacille de la *svinpest* de Suède et celui du *hog-choléra* d'Amérique, ne résout cependant pas la question. Les souris, les lapins et les porcs se sont montrés réfractaires au virus suédois qu'il leur a inoculé. M. Salmon croit que les cultures qu'il a reçues d'Europe se sont atténuées pendant le voyage. Nous ne pouvons souscrire à cet avis, et pour expliquer les résultats obtenus par M. Salmon, nous en sommes réduits à accepter l'hypothèse surprenante que M. Lundgren (qui a apporté la culture à M. Salmon), a lui-même

1. *Centraltbl. f. Bacteriolog.*, t. III, 1888, n° 12.

émise, à savoir : qu'il a été commis quelque confusion de cultures ¹.

Pour montrer que la *svinpest* et le *hog-choléra* sont une même maladie, je vais exposer brièvement les lésions que j'ai rencontrées dans les autopsies que j'ai faites en Suède. Pendant l'année 1888, j'ai pratiqué 16 autopsies d'animaux qui avaient pris très probablement la maladie par l'appareil digestif, et chez tous j'ai trouvé des ulcérations de la muqueuse. Chez la moitié d'entre eux, il y avait des ulcérations gangréneuses, ayant jusqu'à 2 à 3 centimètres de diamètre, et siégeant dans la bouche, particulièrement au-dessus des gencives, dans le repli muqueux. Un jeune porc portait, sur la langue même, une ulcération placée sur la ligne médiane, et qui avait détruit la muqueuse jusqu'aux muscles. Dans un seul cas, j'ai trouvé des lésions dans l'estomac ; une membrane fibrineuse blanc grisâtre, très épaisse surtout vers le fond de la cavité stomacale, recouvrait la muqueuse qui était semée d'innombrables ecchymoses. Chez le même animal on ne rencontrait, comme lésions intestinales, que quelques petites hémorragies de la muqueuse du colon, mais le méso-entère et surtout le méso-colon étaient infiltrés d'une exsudation fibrineuse si abondante, que l'épaisseur du méso-colon dépassait cinq centimètres.

On trouve souvent, dans l'intestin grêle, un gonflement et une induration des plaques de Peyer, et aussi des suffusions sanguines dans la partie inférieure de l'iléon. En général, le reste de l'intestin est sain ; je ne l'ai vu altéré que chez un porc de six mois dont la muqueuse du duodénum et celle du jejunum, sur une longueur de cinquante centimètres, était semée d'hémorragies de la grosseur d'un grain de chènevis à celle d'un pois.

Chez douze porcs sur seize, il y avait des lésions dans le colon et le cœcum ; les plus légères se montraient sous forme d'exsudations fibrineuses adhérentes à la muqueuse qui, au-dessous, était infiltrée et portait des petites érosions et des petites hémorragies. Quand la lésion était plus avancée, la fausse membrane jaunâtre, à bords saillants, avait, au centre, une dépression correspondant à une véritable ulcération de la

1. *Fourth and Fifth annual reports of the bureau of animal industry*, Washington, 1889, p. 163.

couche épithéliale et glandulaire. A côté de ces petites ulcérations, on en voyait d'autres de grandeur et de profondeur variables, à rebords épaissis et à fonds déprimés. Elles étaient recouvertes de débris gangréneux et d'une fausse membrane adhérente gris noirâtre ou vert olive. Au niveau des ulcères, la paroi de l'intestin est épaissie et la surface péritonéale paraît opaque et vascularisée.

Les ganglions lymphatiques du mésentère étaient tuméfiés, et d'une couleur variant du bleu noirâtre au jaune rosâtre.

Un seul animal a présenté de la pneumonie compliquée de pleurésie avec exsudation fibrineuse. Deux fois, j'ai observé des péricardites exsudatives, et plusieurs fois des hémorragies sous le feuillet viscéral du péricarde.

Sept porcs avaient des néphrites avec des infarctus hémorragiques, si abondants dans quelques cas que la surface des reins avait l'aspect d'une mosaïque.

Le foie et la rate n'ont jamais montré d'autre lésion qu'une congestion parfois assez prononcée.

En faisant des cultures sur plaques, au moyen de la gélatine ensemencée avec des particules d'organes, surtout des reins et des ganglions mésentériques, j'ai obtenu des colonies de bactéries décrites dans mon premier mémoire. Ces cultures ont servi à toutes les expériences que j'ai faites dans la suite.

Les coupes colorées des organes faisaient voir des amas de bactéries caractéristiques.

Je n'ai rien à ajouter à ce que j'ai écrit sur la morphologie du microbe de la *svinpest*, si ce n'est qu'il se présente sous une forme courte et ovulaire dans le sang des animaux qui ont succombé très vite à la suite de l'inoculation d'un virus très actif. Dans ce cas, les bactéries sont très nombreuses dans le sang. Cependant, dans le sang du cœur, on trouve aussi des bâtonnets 5 et 6 fois plus longs que larges. Ces formes longues dominent dans les cas où la maladie s'est prolongée.

Je dirai encore que la bactérie qui nous occupe se développe très bien dans du bouillon contenant 7,5 0/0 de sel marin, et qu'elle reste vivante pendant des mois, dans un semblable milieu. Cette particularité peut avoir son importance au point de vue de la police sanitaire : il ne faut pas compter sur la salaison pour faire périr le virus.

Les recherches récentes que je vais exposer maintenant ont été entreprises dans l'idée de donner l'immunité aux animaux contre la *svinpest*. Comme les porcs qui ont subi, sans périr, une première atteinte de la maladie, y sont devenus réfractaires, on peut espérer que l'on obtiendra une vaccination pratique. MM. Cornil et Chantemesse ont réussi, dans certains cas, à donner l'immunité aux lapins en leur inoculant des cultures atténuées par la chaleur, et M. Salmon a annoncé qu'il avait rendu des pigeons réfractaires par l'injection de cultures chauffées privées de microbes.

Si, dans des expériences de ce genre, on ne veut pas être victime d'illusions, il faut avant tout disposer d'un virus dont l'action sur les animaux soit certaine et qui les tue à coup sûr, de façon que l'on ne soit pas exposé à attribuer à la résistance des animaux une survie qui n'est due qu'au manque de virulence des microbes inoculés.

I

RENFORCEMENT DE LA VIRULENCE DE LA BACTÉRIE DE LA « SVINPEST ».

En commençant ce travail, je n'avais à ma disposition que des cultures anciennes, propagées parensemencements successifs dans la gélatine, depuis l'année 1888. Ces cultures avaient été obtenues avec les organes de quelques-uns des porcs dont j'ai relaté les autopsies. Ces bactéries, depuis longtemps habituées à la vie saprophytique, n'étaient plus très virulentes; leur action était irrégulière. C'est ainsi qu'une culture récente dans le bouillon, inoculée à des lapins, à la dose de 1^{cc}, les faisait périr dans un temps qui variait de 3 à 7 jours. Ces mêmes cultures ne tuaient pas les pigeons. On ne pouvait compter sur des résultats bien nets avec un semblable virus : aussi mon premier soin fut d'augmenter son activité au point qu'il fasse périr les pigeons, à coup sûr, même à très petite dose. Pour arriver à ce résultat, j'essayai tout d'abord le procédé bien connu des passages successifs par une série d'animaux.

EXPÉRIENCE. — On broye, dans du bouillon stérilisé, la rate d'un lapin, qui a succombé en 3 jours, à la suite d'une inoculation sous-cutanée. Un

de demi-centimètre cube de cette émulsion est injecté à un lapin neuf. Avec la rate de ce second lapin, on prépare une nouvelle émulsion qui est inoculée, à la même dose, à un troisième lapin, et on continue ainsi la série des passages. Le quatrième lapin succombait déjà en 14 heures. L'émulsion de la rate de ce lapin est injectée sous la peau de trois pigeons qui reçoivent respectivement 0^{cc},10, 0^{cc},25, 0^{cc},50. Le premier meurt en 14 jours, le second en 5 jours et le troisième en 7 jours. Le sang du pigeon n° 4 contenait très peu de microbes, on le garde à l'étuve pendant 48 heures pour que ceux-ci puissent y pulluler¹. Cinq gouttes de ce sang, mélangées à un peu de bouillon, sont inoculées sous la peau d'un pigeon neuf qui meurt en 36 heures. On continue ainsi les passages de pigeon à pigeon, et, dès le 5^e passage, la mort survient en moins de 12 heures. Dans les passages suivants, des animaux périssent en 18 à 36 heures. Mais, en continuant les inoculations successives, ces irrégularités devinrent de plus en plus rares, la virulence des bactéries se fixa, et les pigeons mouraient dans des temps sensiblement égaux. Inoculés le soir à 6 heures, avec 0^{cc},05 à 0^{cc},20 de sang défibriné du pigeon précédent, ils étaient trouvés morts le lendemain matin à 7 heures. Sur 148 pigeons, aucun ne résista. Dans plus de quatre-vingts passages ainsi faits, un pigeon survécut 36 heures et trois 48 heures après l'inoculation. Un pigeon de 26^e passage résista 6 jours; un du 31^e passage, 2 jours et demi, et un du 66^e passage, 5 jours. Ces animaux présentaient évidemment une résistance individuelle toute spéciale. Chez ces pigeons résistants, on ne trouva, à l'autopsie, que peu de bactéries dans le sang, mais tous avaient une péricardite avec exsudat fibrineux très riche en bactéries. Cette lésion ne s'est rencontrée chez aucun des 145 autres pigeons inoculés et qui ont succombé rapidement. L'ensemencement du liquide du péricarde s'était fait, sans doute, grâce aux ecchymoses péricardiques qui ne manquent jamais.

On peut donc, en faisant des passages de lapin à lapin, puis de pigeon à pigeon, augmenter la virulence de notre microbe au point qu'il est toujours mortel pour le pigeon, animal assez résistant. Si, dans le cours des expériences, quelque animal meurt avec un retard, les bactéries n'éprouvent dans ce cas aucune diminution d'activité. L'accroissement de la virulence se manifeste par la rapidité de la mort et l'augmentation des bactéries dans le sang. Chez les pigeons qui périssent en 10-12 heures après l'inoculation de 0^{cc},05 de sang, les microbes sont dans le liquide sanguin trente ou quarante fois plus nombreux que les globules. Il ne faut pas s'étonner qu'un sang si riche en microbes soit mortel à des doses infiniment petites. Ainsi, les pigeons

1. Quand les microbes sont peu abondants dans le sang ou les organes de l'animal qui vient de mourir, c'est un excellent procédé que de mettre ceux-ci à l'étuve pendant quelques heures avant de les inoculer. On assure ainsi la réussite des passages.

53, 54, 55 et 56, infectés le 7 mars à 6 heures du soir avec 0^{cc},25, 0^{cc},025, 0^{cc},0025, 0^{cc},00025 de sang du 10^e passage, sont trouvés morts tous les quatre le lendemain.

Ce virus, si meurtrier pour les pigeons, l'est encore davantage pour les lapins; il les tue en 12-15 heures à la dose de 0^{cc},01 à 0^{cc},25 sous la peau. Mais si l'injection est faite dans les veines, la mort est plus rapide encore. Des lapins qui reçoivent dans une veine de l'oreille 0^{cc},05, et même moins, de sang virulent, succombent en cinq heures.

Le virus exalté pour les lapins et les pigeons est aussi très virulent pour les porcs.

EXPÉRIENCE. — Le 25 mars, on injecte sous la peau de la face interne de la cuisse d'un jeune porc, âgé de 2 mois, 0^{cc},5 de sang de pigeon du 30^e passage. Le 1^{er} avril, l'animal est visiblement malade et il meurt le 9 avril. Il est très maigre, son poids est de 9 kilogrammes. Aucune réaction locale au point d'inoculation; dans l'aîne gauche, il y a un ganglion caséux et un autre bleu noirâtre et tuméfié. Le cœur contient un sang liquide. Dans le poumon droit, il y a plusieurs infarctus lobulaires disséminés. Le poumon gauche, le foie, la rate, les reins et l'intestin grêle n'offrent rien de particulier. Dans le gros intestin, à partir de la valvule iléo-cœcale, on trouve de nombreuses taches gris jaunâtre, constituées par une fausse membrane adhérente à la muqueuse. Ces dépôts membraneux recouvrent des ulcérations à fond déprimé, à bords épaissis. Vers l'extrémité inférieure du colon, les ulcérations sont plus vastes; une d'elles, longitudinale, mesure 4 centimètres de long et 2 centimètres 1/2 de large. Plusieurs, transversales, ont 2 centimètres à 2 centimètres 1/2 dans leur plus grande dimension et 1 centimètre à 1 centimètre 1/2 dans leur plus petite. Des cultures sur plaques montrèrent des colonies caractéristiques. Les bactéries étaient rares dans le sang, nombreuses dans la rate, le foie, les ganglions mésentériques.

EXPÉRIENCE. — Le 3 avril, à 2 heures, on injecte dans une veine de l'oreille d'un porc pesant 14 kilog. 800 et âgé de 9 semaines, 0^{cc},5 de sang de pigeon de 37^e passage. Le lendemain matin, le porc est trouvé mort. — Autopsie. La peau des oreilles, du ventre et de la face interne des cuisses est rouge violacé. Le cœur contient un sang liquide. Il y a un épanchement dans les plèvres, il est surtout abondant à droite. Les ecchymoses sous-pleurales sont nombreuses. Dans les deux poumons, beaucoup d'infarctus hémorragiques lobulaires. Le lobe inférieur du poumon droit est hépatisé. Les bronches et surtout les bronchioles sont remplies d'un mucus grisâtre. Les ganglions du hile du poumon sont tuméfiés et d'une teinte bleu noirâtre. La rate, le foie, les reins sont congestionnés. La cavité péritonéale renferme 200^{cc} de liquide séreux, des tractus fibrineux relient les anses intestinales. Les plaques de Peyer, les follicules isolés sont gonflés. La muqueuse de

l'intestin grêle est injectée. Des cultures sur plaques montrent que tous les organes contiennent des quantités énormes de bactéries.

EXPÉRIENCE. — Du 28 mars au 15 mai, un jeune porc, âgé de 4 mois, mange, à diverses reprises, les viscères de lapins morts à la suite de l'inoculation du microbe de la *svinpest*. Après ces repas, il maigrit et son appétit est variable; il reste cependant en assez bon état jusqu'au 15 mai. Alors il cesse tout à fait de manger, il a une diarrhée continuelle, il ne peut plus se tenir sur ses pattes et meurt le 25 mai. Son poids est de 8 kilog. 500. — *Autopsie*. Amaigrissement extrême. Le cœur contient un sang non coagulé. Les poumons sont pâles, mais normaux et bien perméables à l'air dans toutes leurs parties. Pas de lésions apparentes de la rate, du foie et de l'intestin grêle. Les veines du mésocolon sont injectées et les ganglions lymphatiques de cette région sont tuméfiés. La muqueuse du colon et du cœcum, presque dans toute son étendue jusqu'au rectum, est tapissée d'une fausse membrane gris jaunâtre adhérente. Au-dessous d'elle, la muqueuse est couverte d'ulcérations de grandeurs variables, occupant presque chacun des plis de Lieberkühn. Les bords des ulcérations sont tuméfiés, et leur fond est rempli de détritits du tissu gangrené. Ça et là, entre les ulcérations, des cicatrices ardoisées ont remplacé les couches épithéliale et glandulaire. La muqueuse et la sous-muqueuse sont infiltrées et épaissies dans toute l'étendue du gros intestin. Les ganglions mésentériques, le foie, la rate donnent des cultures caractéristiques.

EXPÉRIENCE. — Le 4 mai, un porc, âgé de 3 mois, avale dans un repas 500^{cc} d'une culture en bouillon, vieille de 14 jours, etensemencée avec le sang d'un pigeon de 54^e passage. A partir du 15 mai, il maigrit, ne mange plus et s'affaiblit. Il meurt le 5 juin. *Autopsie*. — Mêmes lésions que chez le porc précédent. Les ulcérations sont moins confluentes dans la partie inférieure du colon. Les ensemencements montrent que les ganglions mésentériques et le foie contiennent des bactéries; les reins, la rate et le sang n'en contiennent pas.

Le microbe renforcé tue donc les porcs, qu'ils soient inoculés par la voie sous-cutanée, la voie intra-veineuse ou la voie intestinale. Il suffit de rapprocher le récit de l'autopsie des animaux morts dans ces expériences de celui des autopsies des porcs qui ont succombé à la maladie naturelle, pour être convaincu que la bactérie que nous étudions est bien la cause de la *svinpest*.

Sa virulence exaltée se maintient dans les jeunes cultures, et ce n'est qu'après un temps assez long qu'elle paraît diminuer.

II

RÉSISTANCE DU MICROBE A LA CHALEUR.

Maintenant que nous sommes en possession d'un microbe très actif et de virulence constante, nous pouvons essayer de rendre les animaux réfractaires, soit en leur injectant des cultures privées de bactéries vivantes, comme l'a fait M. Salmon, soit en leur inoculant des microbes atténués, comme MM. Cornil et Chantemesse l'ont réalisé. Mais avant d'employer la chaleur pour tuer les microbes de nos cultures ou pour modifier leur virulence, il est indispensable de savoir quelle température maxima peut supporter la bactérie de la *svinpest*.

Dans des tubes effilés stérilisés, on aspire du sang du cœur d'un animal qui vient de succomber. On scelle les tubes à la lampe, aux deux extrémités, et on les immerge dans un bain-marie réglé à la température que l'on désire expérimenter. Après des temps variables, on retire les tubes, on les ouvre, et avec un fil de platine, onensemence le sang chauffé dans du bouillon de veau qui est mis à l'étuve à 35°. En opérant ainsi, on voit que les bactéries ne périssent à la température de 53° qu'après 20 à 25 minutes. A 54°, elles meurent après 10 à 15 minutes; à 55° après 5 à 6 minutes et à 56° elles sont tuées en moins de 3 minutes. Mais si au lieu de faire des ensemencements avec un fil de platine, on inocule à des animaux le contenu entier d'un tube chauffé, ceux-ci succombent souvent alors que le sang paraissait stérile à la culture.

EXPÉRIENCES. — Le 5 mars, du sang de pigeon du 8^e passage est chauffé 40 minutes à 53°, et inoculé à 3 pigeons à la dose de 0^{cc},5 par animal. Le 4^{er} meurt en moins de 12 heures, les deux autres en 16 et 17 heures. Dans le sang on trouve une quantité énorme de bactéries.

Le 6 mars, on injecte à 3 pigeons, sous la peau, à chacun, 1^{cc} du sang de pigeon de 9^e passage, chauffé 20 minutes à 54°. Deux meurent en trois jours, le troisième ne succombe que le 20 mars. Le sang des deux premiers est riche en bactéries, celui du troisième en renferme très peu, mais le foie et la rate donnent, en cultures sur plaques, un assez grand nombre de colonies caractéristiques. Chez ce pigeon qui a survécu longtemps, il y a dans le muscle pectoral gauche, au point de l'inoculation, un séquestre déjà bien isolé. Deux pigeons témoins, qui avaient reçu sous la peau 0^{cc},15 du même sang non chauffé, sont morts en moins de 12 heures.

Le 8 mars, 2 pigeons reçoivent sous la peau, chacun 1^{cc},5 de sang de pigeon du 11^e passage, chauffé 25 minutes à 54°. Ils sont morts en 6 et 8 jours. Un témoin inoculé en même temps avec 0^{cc},1 du sang non chauffé est mort en 12 heures. Dans le sang de tous ces animaux, il y a des bactéries.

Le 12 mars, on injecte sous la peau de 3 pigeons 2^{cc}, à chacun, du sang de pigeons du 13^e passage, chauffé 25 minutes à 54°. Deux pigeons témoins reçoivent 0^{cc},15 du même sang non chauffé; ils meurent en moins de 12 heures. Parmi ceux qui ont reçu le sang chauffé, deux succombent, un en deux jours et un en treize heures. Dans le sang ni dans les organes de ce dernier on ne trouve de microbes, soit au microscope, soit par ensemencements sur gélatine.

On voit donc que le chauffage à 54°, prolongé pendant 25 minutes, ne tue pas toutes les bactéries contenues dans le sang; le plus grand nombre meurt dans les premiers instants, mais il y a quelques individus qui résistent davantage. De sorte que l'on obtient des résultats irréguliers quand on inocule des microbes chauffés à cette température limite. La mort des animaux inoculés est d'autant plus retardée que le chauffage a été plus prolongé, ou fait à une température plus élevée. Chez ceux qui ne meurent qu'après plusieurs jours, la maladie se comporte comme chez les animaux qui ont reçu un virus peu actif, et, à l'autopsie, il y a peu de bactéries dans le sang. Le chauffage n'a cependant pas atténué le microbe, car leur culture est très virulente. La prolongation de la vie est due au petit nombre des bacilles survivants dans le sang chauffé.

On s'aperçoit aussi de cette inégale résistance des bacilles à la chaleur quand on ensemence, en fractionnant, de grandes quantités de sang chauffé dans du bouillon : certains flacons cultivent tandis que les autres restent stériles. Il est probable que les microbes qui résistent ainsi à la chaleur sont ceux qui se trouvent dans le centre des petits caillots. L'inoculation aux pigeons nous a paru plus sensible pour déceler les bactéries encore vivantes que l'ensemencement dans le bouillon. Cela tient sans doute à ce que nous opérons sur un virus adapté par plusieurs passages à l'organisme du pigeon, de sorte que son rajeunissement dans le milieu animal était plus facile que dans le milieu artificiel.

Pour tuer sûrement toutes les bactéries, il faut prolonger pendant 40 minutes le chauffage à 54°. On pourra ensemencer

plusieurs centimètres cubes de sang ainsi chauffé sans jamais avoir de culture.

Les bactéries cultivées dans le bouillon présentent à peu près la même résistance à la chaleur que celles contenues dans le sang.

Dans la plupart des expériences, quand nous avons voulu tuer les bactéries de la *svinpest*, soit dans le sang, soit dans les cultures, nous avons employé une température de 57° qui est très rapidement mortelle, et pour plus de sûreté nous avons prolongé le chauffage pendant une heure.

III

TOXINE DU MICROBE DE LA « SVINPEST ».

Dans une des expériences précédentes, nous avons signalé qu'un pigeon qui avait reçu sous la peau, le 12 mars, 2^{cc} du sang de pigeon de 15^e passage, chauffé 25 minutes à 54°, avait succombé en 12 heures, et que lesensemencements du sang et des organes étaient restés stériles, bien qu'ils aient été multipliés et faits avec de grandes quantités de semence. Ce pigeon, qui était mort si rapidement, n'avait pas succombé par suite du développement de la bactérie dans son corps. Peut-être avait-il péri par intoxication. Dans d'autres essais faits sur des lapins, des animaux auxquels on avait injecté sous la peau 5 à 8^{cc} de sang chauffé 40 minutes à 54° tombaient malades, perdaient l'appétit, montraient une élévation de température de 1° à 2°, puis se guérissaient. Ces symptômes pouvaient s'expliquer par l'introduction, avec le sang, de quelques bactéries affaiblies par le chauffage, mais vivantes cependant. Toutefois, chez un lapin, qui succombait très amaigri, le 31 mars, après avoir reçu, le 22 mars, 8^{cc} de sang chauffé, on ne trouvait aucune lésion macroscopique, et lesensemencements du sang et des organes restaient stériles. Si le sang injecté sous la peau renfermait assez de poison pour tuer à la longue un lapin, il était probable qu'injecté dans les veines ce sang manifesterait plus rapidement son action toxique.

EXPÉRIENCE. — Le 8 avril, on injecte dans les veines d'un lapin n° 39, 8^{cc}, et dans celles des lapins n° 40 et n° 46, 6^{cc} de sang de lapin chauffé

40 minutes à 54°. Ce lapin avait été inoculé avec du sang de pigeon de 30^e passage ¹. Après l'injection, les lapins 39 et 40 tombent dans le collapsus et meurent aussitôt, le n° 46 reste pendant une heure et demie dans un état soporeux, puis il succombe.

Le lapin n° 41 reçoit, à 5^h 30, dans une veine de l'oreille, 4^{cc} du sang employé dans l'expérience précédente. Après l'opération, il paraît bien portant, mais au bout de dix minutes il tombe dans le collapsus, il est dans l'impossibilité de se mouvoir, il fait 180 mouvements respiratoires par minute et meurt à 8 heures du soir. A un autre lapin n° 42, on injecte dans les veines 2^{cc} du même sang. Il reste en bonne santé pendant une heure, puis il a de la difficulté à se mouvoir, et bientôt les pattes sont complètement paralysées; la respiration s'accélère jusqu'à 120; le lendemain on le trouve mort. Ni le sang, ni les organes des lapins morts n'ont donné de culture.

Le lapin n° 43 reçoit dans les veines 0^{cc},50 du même sang, il reste bien portant.

Le sang employé pour ces injections était défibriné, chauffé, puis passé sur une toile très fine de Cambrai pliée en double et stérilisée. Bien qu'à l'autopsie des animaux on n'ait trouvé dans le poumon aucun infarctus ni aucune partie imperméable à l'air, on pouvait craindre qu'une mort aussi rapide ne soit causée par des embolies.

Pour exclure la possibilité d'embolies, le sang chauffé, qui a servi aux expériences suivantes, était filtré sur un papier très épais après avoir été additionné de son volume d'eau stérilisée.

EXPÉRIENCE. — Le 16 avril, on injecte dans les veines de 3 lapins du sang de 48^e passage, chauffé pendant une heure à 54°. Le lapin n° 51 reçoit, à 5^h 45', 3^{cc},5 de ce sang; aussitôt après l'injection il paraît bien portant, mais une demi-heure après il ne marche plus qu'avec difficulté; à 6^h 20, il est complètement paralysé et reste couché sur le ventre, les pattes écartées du corps; la tête inerte est appuyée sur le sol, la respiration est accélérée; il meurt à 6^h 45.

Le lapin n° 52 reçoit 2^{cc},5 dans la veine de l'oreille à 5^h 20'. Il est paralysé à 6^h 30' et meurt à 9 heures du soir.

Le lapin n° 53 reçoit 1^{cc},5. Il urine fréquemment après l'injection; le lendemain il est triste et ne mange pas. Sa température est de 40°2, le 18 avril elle est de 38°8. Les jours suivants il est bien portant.

1. Dans toutes ces expériences, nous nous procurions le sang en inoculant des lapins avec un peu de sang de pigeons de passage. Quand nous disons que nous injectons du sang de 30^e passage par exemple, cela signifie que ce sang a été fourni par un ou plusieurs lapins inoculés eux-mêmes avec le sang du pigeon de 30^e passage.

EXPÉRIENCE. — Le 18 avril, on injecte dans les veines de 3 lapins, du sang de 50^e passage, chauffé 1^h à 56°. Le lapin n° 64 reçoit, à 2^h, 50, 3^{cc} 5 de sang A 3^h 10, difficulté à se mouvoir; à 3^h 40' paralysie des pattes, 160 respirations par minute. Après des convulsions réitérées pendant 5 minutes, il meurt à 3^h 51.

Le lapin n° 63 reçoit 2^{cc}, 5 de sang. Une heure après l'injection, 132 respirations par minute. L'animal urine fréquemment. Le lendemain il est rétabli.

Le lapin n° 65 reçoit 2^{cc} de sang. Il reste bien portant.

EXPÉRIENCE. — Le 19 avril, on injecte dans les veines de 3 lapins, du sang de 51^e passage, chauffé pendant une heure à 58°. Le lapin n° 70 reçoit à 3^h 15', 3^{cc}, 5 de sang. A 4 heures, 116 respirations, paralysie des pattes; à 4^h 20', deux accès de convulsions violentes avec opisthotonos très marqué; à 4^h 24', ralentissement de la respiration, 9 mouvements respiratoires par minute, mort à 4^h 27.

Le lapin n° 71 reçoit à 4 heures, 2^{cc}, 5 de sang. A ce moment, 46 mouvements respiratoires par minute, température 40° 6; à 5^h 15', paralysie des pattes de derrière, 110 respirations. A 5^h 43' paralysie complète, température 42° 1. Mort vers 8 heures du soir.

Le lapin n° 69 reçoit 1^{cc} 75. Pendant quelques heures il reste morne et immobile avec respiration accélérée, émissions fréquentes d'urine. Le 20 avril, il est encore triste et ne mange pas. Le 21 avril il va bien.

EXPÉRIENCE. — Le 25 avril, on injecte à 9 lapins, dans les veines, du sang de 56^e passage, chauffé une heure à 57°. Le lapin n° 83 reçoit à 3^h 50', 3^{cc}, 5. A 4 heures 140 respirations; à 4^h 10' paralysie; à 4^h 17' convulsions, 12 respirations par minute; mort à 4^h 20'.

Le lapin n° 91, reçoit à 4^h 10', 1^{cc} de sang. A 6 heures, paralysie commençante; à 6^h 45', paralysie complète, 110 respirations. Mort dans la nuit.

Les sept autres lapins, portant les n°s 84 à 90, reçoivent la même dose de 1^{cc}, tous résistent et se rétablissent.

Ces expériences montrent que dans le sang des animaux inoculés avec le virus très virulent de la *svinpest*, il y a, au moment de la mort, un poison très actif, que ce poison n'est pas détruit par un chauffage de une heure à 58°, que ses effets prompts et meurtriers, quand il est introduit dans la circulation, sont beaucoup plus lents et moins intenses quand il est injecté sous la peau.

La dose mortelle pour les lapins est environ de 8^{cc} en injection sous-cutanée et de 3^{cc}, 5 en injection dans les veines. Les doses toxiques sont variables, parce que la quantité de poison n'est pas la même dans tous les sangs, et parce que la résistance

individuelle des animaux d'expériences est très différente. Les uns, en effet, résistent après l'introduction de 3^{cc},5 de sang dans les veines, d'autres succombent s'ils reçoivent seulement 0^{cc},50.

EXPÉRIENCE. — Le 3 mai, on injecte, dans les veines de 8 lapins, du sang de 59^e passage, chauffé pendant une heure à 57°. Le lapin n° 102 reçoit, à 4^h30', 3^{cc},5 de sang. A 2 heures, 110 respirations. Il urine beaucoup, reste couché sur le ventre et paraît sur le point de mourir. Le lendemain, il est triste, ne mange pas, mais deux jours après il est rétabli.

Le lapin n° 106 reçoit, à 2^h15', 0^{cc},50 de sang. A 3^h45', il marche avec difficulté, respiration : 115. A 5 heures, paralysie complète des pattes. De 5^h30' à 5^h35', convulsions répétées. A 6^h35', coma avec respiration accélérée et secousses convulsives. Mort à 9 heures. A l'autopsie, aucune lésion.

Les lapins n°s 103, 104, 105, 107, 108 et 109 reçoivent la même dose de 0^{cc}, 50. Ils restent bien portants.

Après l'injection intra-veineuse de doses moyennes de sang toxique chauffé, les lapins ne paraissent pas malades pendant une demi-heure environ, puis les mouvements respiratoires deviennent plus fréquents et peuvent s'élever jusqu'à 120 et plus à la minute; ils atteignent même 170-180 chez les animaux qui doivent mourir. La paralysie débute par les pattes postérieures et par les muscles adducteurs, elle s'étend ensuite aux membres antérieurs et aux muscles du cou; ceux du tronc sont les derniers atteints. Alors apparaissent presque toujours des convulsions qui vont parfois jusqu'au tétanos complet. Ces accès convulsifs se manifestent surtout quand on oblige l'animal à un effort, lorsqu'on le touche, ou quand on fait un bruit violent dans son voisinage. La mort peut survenir dans un de ces accès; et, avant d'expirer, l'animal jette des cris aigus. Dans plusieurs cas, pendant les dernières minutes de la vie, nous avons observé un ralentissement extrême de la respiration (10 à 12 mouvements par minute). Elle consiste en une inspiration très rapide suivie d'une immobilisation du thorax par une véritable crampe des muscles inspireurs. La température était augmentée de 1°,5 à 2°, chez quelques animaux, mais nos observations thermométriques ne sont pas assez nombreuses pour que nous affirmions que le fait est général. Lorsque les lapins survivent, la sécrétion urinaire est augmentée pendant quelques heures.

C'est cette matière toxique qui cause la mort des animaux inoculés avec le microbe de la *svinpest*. En effet, les lapins qui reçoivent des doses minimales de virus très virulent dans les veines présentent des symptômes en tout semblables à ceux qui suivent l'injection de doses toxiques de sang privé de bactéries. Lorsque le poison n'amène la mort qu'après plusieurs jours, les signes de cet empoisonnement chronique sont les mêmes que ceux de la maladie prolongée qui est produite par l'inoculation de petites doses de virus ou d'un virus affaibli. De sorte que, d'après nous, dans les cas aigus de la maladie qui nous occupe, la mort survient par une véritable intoxication. Nous regardons comme trop exclusive l'opinion de M. Salmon, qui veut que l'action des ptomaines soit secondaire, et que le rôle principal appartienne aux obstructions des veines par des amas de bacilles qui amènent l'arrêt de la circulation et la destruction des tissus.

EXPÉRIENCE. — Le 19 mai, à 10^h 15', on injecte, dans la veine de l'oreille d'un lapin n° 130, 0^{cc},05 du sang de pigeon de 77^e passage. Avant l'injection, 56 respirations par minute. A 2 heures, paralysie commençante, 114 respirations. A 3 heures, paralysie complète. A 3^h 20', convulsions réitérées. A 3^h 35', la mort survient dans un accès de tétanos. L'autopsie est pratiquée aussitôt, le sang contient un nombre immense de bacilles.

Le 21 mai, à 11 heures du matin, on injecte dans les veines de deux lapins, nos 133 et 134, 0^{cc},05 du sang de 79^e passage. A deux heures, le lapin 133 fait 115 mouvements respiratoires à la minute et ses pattes de derrière commencent à être paralysées. A 4^h 5', paralysie complète. A 4^h 20', crise convulsive pendant 5 minutes. A 4^h 32', nouvelles convulsions, opisthotonos, cris et mort.

Le lapin 134 a reçu l'injection à 11^h 5'. A 2^h 30', paralysie commençante, 100 respirations. A 3^h 40', paralysie complète, l'animal est aplati sur le ventre, les pattes écartées. Si on le touche, il est pris de convulsions; ces crises convulsives se produisent aussi spontanément de temps en temps. Il meurt dans un de ces accès à 4^h 2'. A l'autopsie, on trouve chez ces deux lapins un nombre immense de bactéries dans le sang.

Ces exemples suffisent à montrer l'identité des symptômes, que la maladie soit causée par l'introduction dans le sang du poison chimique ou du microbe très virulent. On remarquera avec quelle rapidité un virus de 75^e ou de 77^e passage pullule dans l'organisme des lapins et amène leur mort. Le nombre immense des bactéries contenues dans le sang explique la formation rapide des toxines. Souvent, en effet, à la suite d'une

injection intra-veineuse d'une très petite quantité de ce virus exalté, la mort survient en 5 à 6 heures. Le sang de l'animal qui a péri dans un temps si court contient, au moment même de la mort, autant de matière toxique que celui des animaux qui ont résisté pendant 10 à 12 heures. Notre bactérie très virulente trouve dans le sang vivant des conditions particulièrement favorables à l'élaboration de son poison; portée dans du bouillon peptonisé, à la température de 35°, elle en fabrique beaucoup moins, soit dans les cultures à l'air, soit dans les cultures sans air.

EXPÉRIENCE. — Le 24 et le 27 mai, on injecte en deux séances, dans les veines du lapin n° 136, 110^{cc} d'une culture en bouillon de veau, âgée de 14 jours, faite dans le vide etensemencée avec du sang de pigeon de 68^e passage. Cette culture a été stérilisée par chauffage à 57° pendant une heure, puis elle a été filtrée sur papier stérilisé. L'animal maigrit, mais ne meurt pas.

Aux mêmes dates, le lapin n° 137 reçoit dans les veines la même quantité d'une culture dans bouillon, de même origine que la précédente et du même âge, mais faite à l'air et stérilisée aussi à 57° pendant une heure. L'animal maigrit et meurt le 2 juin.

Les cultures faites dans le vide paraissent contenir moins de toxine que celles faites à l'air; les cultures en sérum en renferment plus que celles en bouillon.

EXPÉRIENCE. — On mélange 15^{cc} de sérum, retiré avec pureté du sang d'un lapin, à 30^{cc} de bouillon, onensemence ce liquide avec du sang de pigeon de 74^e passage, et on le met à l'étuve à 35°. Après 14 jours, on chauffe la culture pendant une heure à 57°, et on passe sur un filtre de papier stérilisé. 40^{cc} du liquide ainsi obtenu sont injectés, le 30 mai, dans les veines du lapin n° 140. L'animal reste bien portant.

Le même jour, le lapin n° 141 reçoit, dans les veines, 50^{cc} d'une culture faite dans sérum de bœuf et traitée comme la précédente; il meurt le 3 juin. Le sang et les organes ensemencés sont stériles.

Le pouvoir toxique des cultures dans le bouillon ou dans le sérum est beaucoup plus faible que celui du sang des animaux qui ont succombé à la maladie. C'est en vivant comme parasite que les bactéries de la *svinpest* manifestent au maximum leur faculté toxigène; quand elles croissent en saprophytes, dans les bouillons ou le sérum, elles élaborent peu de poison. Si

leur vie saprophytique est prolongée pendant quelque temps, elles deviennent moins aptes à fabriquer la toxine, même quand on les introduit dans le sang des animaux. Elles ne reprennent toute leur puissance toxigène qu'après plusieurs passages par un organisme vivant, de sorte qu'à la virulence extrême correspond le maximum de production toxique.

EXPÉRIENCE. — Une culture sur gélatine, vieille de trois mois et demi, est ensemencée dans du bouillon; avec cette culture récente, on inocule un lapin qui périt en 4 jours. Le sang de ce lapin est chauffé une heure à 57°, et le 16 mai, à 11^h 40', on en injecte 5^{cc} dans les veines du lapin n° 128; à 4^h 50' on fait une nouvelle injection de 5^{cc} de sang chauffé. Après cette deuxième injection, on observe, pendant quelques heures, une émission abondante d'urine. A 3 heures, les mouvements respiratoires dépassent 180 par minute, mais il n'y a pas de paralysie. Le lendemain, le lapin est assez bien portant. Le 22 mai, il est en bonne santé et on lui injecte, dans l'après-midi, 1^{cc} de sang de lapin de 77° passage, chauffé une heure à 57°. Le lendemain, il est trouvé mort dans sa cage.

Ces résultats expliquent comment les expérimentateurs n'ont obtenu jusqu'ici que des liquides très peu riches en toxine de la *svinpest*. Ils se servaient de cultures en bouillon ou en gélatine, et ils n'avaient à leur disposition qu'un microbe trop peu virulent pour être un bon producteur de poison.

Nous avons, à plusieurs reprises, appelé l'attention sur ce fait; à savoir que les lapins qui résistent à l'introduction de doses énergiques dans le sang ont d'abondantes et de fréquentes émissions d'urines. Cette sécrétion exagérée élimine sans doute une partie du poison; cependant celui-ci paraît s'accumuler dans l'organisme. Si, chez un lapin qui a reçu une injection de sang toxique, on répète celle-ci après deux ou même plusieurs jours, il peut arriver qu'il succombe à l'action d'une dose égale ou même moindre que celle qu'il avait déjà supportée. C'est lorsqu'on fait des injections répétées que cette accumulation devient évidente; la mort survient quelquefois après l'introduction d'une dose qui aurait été inoffensive si elle n'avait pas été précédée d'autres injections dont les actions se sont ajoutées les unes aux autres.

Les animaux qui ont été soumis à l'action du poison de la *svinpest* maigrissent beaucoup, bien qu'ils mangent considérablement; leur nutrition se fait si mal qu'ils meurent souvent,

sans cause apparente, au bout d'un certain temps. Ceux qui survivent ne reviennent à leur état primitif qu'après une période assez longue.

EXPÉRIENCE. — Du 25 avril au 9 mai, le lapin n° 86 a reçu en quatre injections intra-veineuses, 3^{cc} 5, en tout, de sang chauffé une heure à 57°; il est mort le 20 mai. Son poids était tombé de 1,550 grammes à 1,040 grammes.

Le lapin n° 89, qui a reçu la même dose du même sang, dans les mêmes conditions, est mort le 14 mai. Son poids était tombé de 1,520 grammes à 990 grammes.

Le lapin n° 105 reçoit du 3 mai au 16 mai, en trois séances, 2^{cc} 5, en tout, de sang virulent chauffé une heure à 57°. Il est mort le 17 mai. Son poids était tombé de 1,750 grammes à 1,190 grammes.

A l'autopsie, on ne trouve qu'un amaigrissement et une anémie très marqués; ni le sang ni les organesensemencés n'ont donné de cultures. D'autres lapins, qui avaient reçu du sang chauffé dans les mêmes conditions, ont survécu.

Quelles sont les propriétés de la substance toxique contenue dans le sang des animaux qui succombent à l'inoculation du microbe très virulent de la *svinpest*? Elle passe, au moins en partie, à travers le filtre de porcelaine; elle n'est pas détruite par un chauffage à 57° prolongé pendant une heure. A une température plus haute elle est altérée. Du sang très actif, chauffé à 100°, n'a plus de pouvoir toxique; à 60° il se coagule en partie, et le liquide qui imprègne le coagulum n'est pas offensif, même à doses élevées. Le coagulum albumineux retient la matière active.

EXPÉRIENCE. — On chauffe 10 minutes à 100° 25^{cc} de sang de 57° passage. Le coagulum est mélangé avec 25^{cc} d'eau stérilisée et on laisse macérer pendant plusieurs heures; on filtre sur papier et tout le liquide recueilli est injecté dans les veines du lapin n° 100 qui n'éprouve aucun mal. Le précipité resté sur le filtre, séché dans le vide, pulvérisé finement, reste mélangé pendant trois jours avec un peu de glycérine, à la glacière; on ajoute alors 50^{cc} d'eau stérilisée, on filtre sur papier, le liquide obtenu est injecté dans les veines d'un lapin n° 101, qui reste bien portant.

On coagule par chauffage de une heure à 60°, 25^{cc} de sang de 52° passage. Le coagulum est mis à macérer avec 50^{cc} d'eau stérilisée, pendant trois jours à la glacière, puis on filtre sur papier stérilisé. Le 25 avril, à 2^h 15', on injecte dans les veines d'un lapin tout le liquide obtenu; à 3^h 15', il est inquiet, 110 respirations, à 4 heures, paralysie. Mort à 4^h 24' dans une crise tétanique.

Le poison contenu dans le sang commence donc à être altéré par la chaleur, dès la température de 60°. Une partie se retrouve dans le coagulum, qui l'abandonne à l'eau lorsqu'on le laisse assez longtemps en contact avec ce liquide. Il est donc probable que la matière active n'a pas été coagulée par le chauffage à la façon d'une albumine, mais qu'elle a été entraînée par le précipité. Cette adhérence aux précipités, et la manière dont elle se comporte à la chaleur la rapprochent des diastases ou, si l'on veut, de ce que l'on a appelé toxalbumines, dans ces derniers temps. L'étude que nous en avons faite est trop incomplète pour que nous nous prononcions sur sa nature, cependant elle suffit pour nous permettre de dire que ce poison n'est pas un alcaloïde.

IV

IMMUNITÉ CONFÉRÉE PAR L'INJECTION DE SANG STÉRILISÉ.

M. Salmon a déjà publié qu'il était possible de donner l'immunité aux pigeons, en leur injectant des cultures privées de microbes. Il était à supposer que l'on arriverait bien plus facilement au même résultat par l'injection de sang stérilisé, beaucoup plus riche en matière active que les liquides vaccinaux de M. Salmon.

1° *Immunité conférée aux lapins.* — Les premières expériences que nous avons faites dans ce sens ont porté non sur les pigeons, mais sur les lapins. D'après ce que nous avons dit sur l'accumulation du poison chez ces animaux, et à cause aussi de la grande activité du sang que nous employons, il faut procéder avec ménagement aux injections vaccinales et ne pas trop les rapprocher.

EXPÉRIENCE. — Le lapin n° 69 reçoit dans les veines, en 3 séances, le 19 avril, le 5 et le 9 mai, 3^{cc},5 en tout du sang du 51^e, du 59^e et du 66^e passages, chauffé pendant une heure à 57°. Trois jours après la dernière injection, on lui inocule sous la peau 0^{cc},15 du sang du 71^e passage. Il reste bien portant les jours suivants. Un témoin qui reçoit la même dose meurt en moins de 36 heures.

Au lapin n° 83, on injecte dans les veines, en 5 séances, du 27 avril au 16 mai, 4^{cc},5 en tout, de sang de 56^e-72^e passages, chauffé pendant une heure à 57°. Le 20 mai, on lui inocule sous la peau 0^{cc},15 de sang virulent de 73^e passage. Il reste bien portant. Deux lapins témoins, qui ont été inoculés avec la même dose, meurent en moins de 12 heures.

Trois lapins, nos 107, 108 et 109, reçoivent dans les veines, en 4 séances, du 3 au 22 mai, 3^{cc} en tout de sang du 60^e au 77^e passage, chauffé une heure à 57°. Deux jours après la dernière injection vaccinale, on leur inocule sous la peau 0^{cc} 15 de sang virulent du 82^e passage. Ils restent bien portants tous les trois. Deux témoins inoculés en même temps meurent en moins de 12 heures.

Au lapin n° 31, on injecte sous la peau, le 22 mars, 5^{cc} de sang du 27^e passage, chauffé 40' à 55°, et le 18 avril, 10^{cc} de sang du 51^e passage, chauffé pendant une heure à 57°. Le 13 mai, il est inoculé sous la peau avec 0^{cc} 15 de sang virulent de 71^e passage. Il reste bien portant; le témoin meurt en moins de 36 heures.

Ces expériences, dans lesquelles l'immunité des animaux a été éprouvée au moyen d'un virus très actif, montrent que les lapins peuvent être rendus réfractaires par des injections soit sous-cutanées, soit intra-veineuses, de sang très virulent privé de microbes par le chauffage. Cependant, il peut arriver que des animaux qui ont reçu du sang chauffé à doses élevées succombent si on leur inocule le virus le plus virulent.

EXPÉRIENCE. — Quatre lapins reçoivent dans les veines, dans des séances séparées, 5^{cc}, 4^{cc}, 2^{cc}, 5 et 2^{cc} de sang de différents passages, et chauffé pendant une heure à 57°. Ils sont inoculés, deux jours après la dernière injection, avec 0^{cc} 15 de sang très virulent : tous ont succombé. Mais la maladie durait chez eux, de 36 à 60 heures, tandis que chez les témoins elle était de moins de 12 heures. Les bactéries étaient très rares dans le sang des animaux qui ont reçu le sang chauffé; elles étaient innombrables dans le sang des témoins.

Le résultat aurait peut-être été différent si les injections vaccinales avaient été plus espacées, et si l'inoculation d'épreuve avait été faite quelques jours plus tard.

On aurait pu croire que les animaux qui sont devenus réfractaires au virus le plus énergique, après les injections de sang toxique, ont acquis une accoutumance à l'action du poison, et qu'ils sont capables de supporter des doses qui les auraient tués tout d'abord. Il n'en est rien. Même si on choisit des lapins tout à fait remis du malaise qui suit les injections et l'inoculation d'épreuve, et dont la vigueur et le poids indiquent la parfaite santé, ils meurent comme les témoins si on leur injecte dans les veines, non pas une dose exagérée, mais la dose ordinairement mortelle de sang virulent chauffé.

EXPÉRIENCE. — Le 9 juin, on injecte dans les veines, à un lapin neuf et à trois lapins n^{os} 69, 83 et 31 qui ont résisté au virus le plus actif, 3^{cc},5 de sang de 79^e passage, chauffé une heure à 57°

Le lapin n^o 69 pesait, le 19 mai, 1,900 grammes, au moment où il subissait l'inoculation d'épreuve; il pèse le 9 juin 2,070 grammes. L'injection est faite à 11^h 20'. A midi, 122 respirations, émission fréquente d'urine. A 1^h 5', paralysie commençante. A 1^h 20', paralysie complète. Accès convulsif d'une durée de 4 minutes. Mort à 1^h 35'.

Le lapin n^o 83 pesait 1,760 grammes le 20 mai; le 9 juin il pèse 1,960. L'injection est faite à 11^h 40'. A 11^h 40', paralysie des pattes de derrière. A 11^h 50', paralysie complète. La mort est précédée de quelques convulsions, elle survient à midi sept minutes.

Le lapin n^o 31, qui pesait au moment de l'inoculation de contrôle 1,650 grammes, pèse 1,710 grammes. A 11^h 35', on lui injecte 4^{cc},5 dans les veines. A 1^h 40', 140 respirations, émission fréquente d'urine, paralysie au début. A 1^h 48', accès de tétanos qui persiste avec la même intensité jusqu'à 2^h 1', moment de la mort.

Le lapin n^o 142 témoin reçoit, à 10^h 55', 3^{cc} 5 dans les veines. A 4 heures, 160 respirations. A 11^h 45, paralysie du train postérieur, 100 respirations. A midi 10', 12 respirations seulement. A midi 13', accès de tétanos pendant lequel survient la mort à midi 17'.

L'immunité contre le microbe peut être acquise sans que l'immunité contre la toxine soit établie. Il est vrai que l'injection de sang chauffé dans les veines cause une intoxication tout à fait brutale, et que les choses se passeraient peut-être différemment si on introduisait le poison sous la peau. Ces expériences sont analogues à celles que MM. Charrin et Gamaléia ont faites avec les cultures stérilisées du bacille pyocyanique.

2^o *Immunité des pigeons*. — M. Salmon, le premier, a annoncé qu'il avait conféré aux pigeons l'état réfractaire contre le hog-choléra, en leur injectant des cultures stérilisées du microbe de cette maladie. Je me suis efforcé de répéter cette importante expérience en me plaçant dans les conditions indiquées par M. Salmon lui-même.

EXPÉRIENCE. — Suivant la méthode de M. Salmon, j'ai injecté le 6 janvier, sous la peau de 5 pigeons, 1^{cc} d'une culture en bouillon, âgée de 14 jours et chauffée pendant 2 heures à 60°. Le 8 janvier, les pigeons ont reçu la même dose de liquide vaccinal. Trois jours après, chacun d'eux a reçu, au niveau du muscle pectoral, 0^{cc},75 d'une culture du microbe de virulence ordinaire, âgée de 6 jours. Tous ces pigeons furent conservés en bonne santé pendant des mois. On ne peut cependant pas dire qu'ils avaient acquis l'immunité, car 5 pigeons neufs, inoculés en même temps qu'eux,

avec la même culture et à la même dose, restèrent également bien portants ¹.

Pour savoir si cette injection de virus vivant leur avait donné l'immunité, on inocule sous la peau, à 2 pigeons de chaque lot, 0^{cc},25 de sang de 6^e passage. Ils sont morts, 3 en 10 heures et un en 11 heures. Ils n'avaient donc pas l'immunité.

Des pigeons restants, un fut sacrifié parce qu'il avait une éruption autour du bec. Aux 5 autres on injectait, le 12 avril, 2^{cc} d'une culture en bouillon stérilisée par chauffage à 57°, pendant une heure. Cette culture avait été ensemencée avec du sang de 30^e passage, et était restée 14 jours à l'étuve à 33°. Le 16 avril et le 20 avril, on répète l'injection vaccinale. Ces animaux ont reçu chacun 6^{cc} de culture stérilisée, sans compter les injections vaccinales et l'inoculation subies en janvier. Le 26 avril, 6 jours après les dernières injections préservatrices, ils reçoivent sous la peau 0^{cc},75 d'une culture de sang de 56^e passage, vieille de 3 jours. Tous les 5 sont morts, 2 en moins de 15 heures, les autres en 2 jours et demi.

Chez tous on trouvait des séquestres bien marqués, dans les muscles, au point même où avait été faite l'inoculation du 11 janvier, ce qui est un signe que cette culture avait agi; on se rappelle d'ailleurs qu'elle tuait les lapins.

EXPÉRIENCE. — Le 12 mars, 5 pigeons reçurent sous la peau 2^{cc} de sang de 15^e passage, chauffé 25 minutes à 54°. Deux succombèrent, trois restèrent vivants. Le 17 mars, 2 des survivants reçurent sous la peau 2^{cc} de sang de 19^e passage, chauffé 40 minutes à 54°. Le 23 mars, alors qu'ils étaient en bonne santé, on les inocule sous la peau, avec 0^{cc},75 d'une culture en bouillon vieille de 5 jours, et ensemencée avec du sang de 25^e passage. Ils meurent en 3 et 4 jours.

Au dernier pigeon de cette série on injecte, sous la peau, en 2 séances, 4^{cc} en tout du sang de 44^e passage, chauffé 40 minutes à 54°. Le 26 avril, 10 jours après, il est inoculé avec 0^{cc},75 de la culture active. Il meurt 4 jours après. A l'autopsie on trouve dans le muscle pectoral un séquestre, indice qu'il y avait encore des microbes vivants dans le sang injecté le 12 mars. Les autres injections n'ont laissé que quelques débris découlés. L'ensemencement de la rate et du sang, dans la gélatine, donne des colonies caractéristiques.

1. Une expérience était faite parallèlement sur des lapins. Le 6 janvier, trois lapins reçoivent, sous la peau, 18^{cc} de la culture chauffée qui a servi pour les pigeons, et le 8 janvier on leur fait une nouvelle injection sous-cutanée de 10^{cc}. Les quantités de liquide vaccinal injectées sont, par rapport au poids des lapins, du même ordre que celles que M. Salmon injecte aux pigeons. Trois jours après la deuxième injection, les lapins sont inoculés sous la peau, en même temps que trois lapins neufs, avec 0^{cc},75 de la culture qui a été donnée aux pigeons. Les 6 lapins meurent en 3 à 7 jours, et celui qui a résisté le plus longtemps était un témoin. Ceux qui avaient reçu le liquide vaccinal étaient morts en moins de 4 jours.

La culture d'épreuve était donc active pour les lapins, mais insuffisante pour tuer les pigeons; elle avait la même origine que celle qui a servi à la préparation

En injectant aux pigeons des cultures stérilisées, nous ne sommes pas parvenus à leur donner l'immunité. Nous n'avons pas réussi non plus à les rendre réfractaires à l'action d'un virus virulent, en leur introduisant d'abord sous la peau du sang stérilisé, beaucoup plus riche que les cultures en matières chimiques actives. Le procédé qui a réussi avec les lapins a échoué avec les pigeons naturellement plus résistants. Il est donc assez difficile de conférer l'immunité à ces oiseaux, puisque des pigeons, qui ont subi d'abord l'action de cultures chauffées, puis celle de bactéries vivantes, et qui ont reçu par surcroît des doses de cultures stérilisées trois fois plus fortes que celles indiquées par M. Salmon, périssent après une inoculation de microbe virulent. Bien plus, des pigeons, auxquels on a introduit sous la peau 4 et 6^{cc} de sang chauffé, meurent de même; cependant, les expériences que nous avons rapportées prouvent que ce sang contient au moins 30 fois plus de substance active que les cultures. Un pigeon auquel on donne 6^{cc} de ce sang est sous l'influence d'une quantité de toxine de 50 à 60 fois plus grande que celle qui a été injectée aux oiseaux de M. Salmon. On a eu soin de ne chauffer les liquides employés qu'à 57°, pour éviter l'altération qu'ils commencent à subir vers 60°, qui est la température qu'emploie M. Salmon.

Si on admet, avec M. Salmon, « que le degré d'immunité conféré par les injections préventives dépend de la quantité de ptomaïne produite par les microbes spécifiques », on s'explique difficilement pourquoi les pigeons de nos expériences n'avaient pas l'immunité, et on se demande quel aurait été le résultat des expériences de M. Salmon, s'il avait employé comme virus d'épreuve un microbe assez actif pour tuer sûrement les pigeons neufs?

des liquides vaccinaux. Si les lapins n'avaient pas l'immunité, cela tient sans doute à ce qu'ils avaient reçu trop peu du liquide préservateur.

EXPÉRIENCE. — Dans les veines de trois lapins, on injecte en 2 séances 90^{cc} d'une culture en bouillon âgée de 14 jours et filtrée sur porcelaine. Six jours après, un des lapins est inoculé sous la peau, avec une culture en bouillon; il meurt en cinq jours. Le second lapin est mis dans une cage avec d'autres animaux qui furent infectés par du virus virulent. Au bout de quatre semaines, il mourut en présentant la forme intestinale de la maladie, avec ulcération du colon et du cœcum. La rate donna des cultures caractéristiques. Il avait été infecté par les déjections des autres lapins.

Le troisième lapin fut conservé, il était bien portant 3 mois après. Malgré les hautes doses de culture stérilisée qu'ils avaient reçues, ces lapins n'étaient pas réfractaires.

V

ESSAI D'ATTÉNUATION DU VIRUS PAR CULTURE A HAUTE TEMPÉRATURE.

MM. Cornil et Chantemesse ont cultivé le virus de la pneumo-entérite des porcs pendant 90 jours à $+43^{\circ}$, et dans ces conditions ils ont obtenu des cultures atténuées qui, inoculées aux lapins et aux cobayes, les ont rendus réfractaires au virus le plus virulent. Quel était l'origine des bactéries ensemencées à haute température? Avaient-elles été cultivées comme saprophytes pendant plusieurs générations; venaient-elles directement d'un animal? Quelle était leur virulence? Quel est le degré de virulence que les auteurs regardent comme le plus élevé? Dans leur mémoire, MM. Cornil et Chantemesse ne s'expliquent pas sur ces points.

M. Salmon n'a pas réussi à atténuer les bactéries et il pense « que la force pathogénique, chez les bactéries du hog-choléra, n'est détruite que par la mort même des micro-organismes ». Il a cependant fait des cultures à la température de $43^{\circ},5$ — 44° , plus élevée que celle employée par MM. Cornil et Chantemesse.

Dans mes essais, pour avoir un point de départ bien établi, j'ai pris comme semence du sang, très riche en bactéries, venant de pigeons qui avaient succombé en moins de 12 heures après une inoculation sous-cutanée. Une goutte de ce sang est ensemencée dans du bouillon de veau neutre et peptonisé, que l'on place dans une étuve bien réglée. Tantôt la culture se faisait dans l'air calme, tantôt dans un courant d'air. Dans ces conditions, à une température de 41° à $41^{\circ},5$, il y a un développement dans les premières 24 heures, mais au bout de 2 à 3 jours, les bactéries sont mortes. Elles ne pullulent pas si on les ensemence dans du bouillon mis à 35° , et ne produisent aucun effet sur les animaux auxquels on les injecte même à forte dose.

EXPÉRIENCE. — Le 13 mai, on met à l'étuve, réglée à $41^{\circ},8$, du bouillon de veau peptonisé, ensemencé avec une gouttelette de sang de pigeon de 71^e passage, extrêmement riche en bactéries. Le flacon de culture est traversé par un lent courant d'air. Le 14 mai, il y a une culture évidente. Le 16, on fait une prise de semence que l'on porte dans du bouillon mis à 35° ; celui-ci reste stérile. Le 17 mai, un lapin, n° 123, reçoit dans les veines 2^{cc} de la culture à $41^{\circ},8$, il n'éprouve aucun mal. Un lapin, n° 125, qui reçoit une

culture du même sang restée 3 jours à 35°, meurt en moins de 12 heures.

Le 18 mai, du bouillon neutre peptonisé,ensemencé par une goutte de sang du 7^e passage, est mis à l'étuve à 41°, sans courant d'air. Vingt-quatre heures après, la culture est manifeste. Le 21, on la sème dans du bouillon placé à l'étuve à 35°. Celui-ci reste stérile. Le 22 mai, on injecte dans les veines d'un lapin n° 116, 2^{cc} de la culture à 41°; il reste bien portant. Un lapin témoin, inoculé dans la veine de l'oreille avec 0^{cc} 10 d'une culture du même sang, faite à 35°, est trouvé mort le lendemain.

Parfois, des animaux, inoculés avec de fortes doses de ces cultures restées pendant quelques jours à 41°-41°,8 meurent, mais avec un retard marqué. Cela tient probablement à ce que quelques microbes, renfermés dans les petits caillots du sang ensemencé, ont été soustraits à l'action brusque du milieu, et se sont néanmoins un peu affaiblis.

EXPÉRIENCE. — Le 22 mai, un lapin reçoit dans les veines 2^{cc} de la culture donnée au lapin n° 116, mais faite en courant d'air à 41°. Il meurt le 28 mai. Les organes et le sang sont ensemencés; la rate seule fournit des colonies rares, mais caractéristiques.

Les résultats des quelques essais que je viens de rapporter, sont bien différents de ceux obtenus par MM. Cornil et Chantemesse et par M. Salmon. Si mes bactéries périssaient à une température qui était bien supportée par celles de ces expérimentateurs, cela tient sans doute à ce qu'elles venaient directement d'un animal de passage, qu'elles avaient vécu longtemps comme parasites, et que, transportées brusquement dans un milieu artificiel, elles s'y montraient moins résistantes que les bactéries habituées à la vie saprophytique. M. Salmon, et je suppose aussi MM. Cornil et Chantemesse, ont pris comme semence des bactéries cultivées depuis longtemps au laboratoire. D'ailleurs, on trouve des inégalités biologiques très marquées chez les bactéries de la *svinpest*, selon qu'elles ont vécu dans telles ou telles conditions. Ainsi, à la même température, les cultures en bouillon ensemencées avec le sang d'un animal, sont moins abondantes que celles ensemencées avec les bactéries qui ont pullulé dans la gélatine. Les cultures sur pomme de terre sont différentes par leur abondance et par leur couleur, suivant qu'elles ont pour origine des microbes ayant vécu quelque temps comme parasites ou des bactéries qui ont poussé comme saprophytes. Je compte

faire des recherches sur ces faits ainsi que sur l'atténuation par la chaleur du microbe de la *svinpest*, car la question est à peine ébauchée.

La vaccination contre la pneumo-entérite des porcs n'est évidemment pas résolue par les recherches que je viens d'exposer. L'important serait de donner l'immunité aux porcs avec certitude et sans leur faire courir de danger; je n'ai pas encore abordé ce sujet, et le présent travail n'est qu'un acheminement vers l'étude de cette question pratique. J'espère le continuer et je me propose de rechercher si, par des injections de sang toxique suivies de l'inoculation d'un virus atténué, on peut rendre les animaux réfractaires à l'action des bactéries les plus virulentes. Peut-être arrivera-t-on ainsi à tirer quelque application des observations que j'ai faites sur la substance toxique élaborée par le virus très virulent de la *svinpest*.

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DE L'IMMUNITÉ LE CHARBON DES POULES

PAR LE DR. K. E. WAGNER, DE SAINT-PÉTERSBOURG.

(Travail du laboratoire de M. E. Metchnikoff, à l'Institut Pasteur.)

Presque tous les auteurs sont d'accord pour dire que dans les conditions ordinaires les poules sont réfractaires au charbon. Cette opinion, émise pour la première fois par Pasteur ¹ devant l'Académie de Médecine de Paris, a rencontré une vive opposition de la part de Colin qui n'a pu, malgré les invitations répétées de Pasteur, lui présenter une poule atteinte de charbon. Feser ², sur 24 poules inoculées sous la peau, n'a pas vu le charbon se développer une seule fois; l'infection ne survenait pas non plus lorsque les poules recevaient pendant des semaines une nourriture contenant des bacilles du charbon. Koch, Gaffky et Löffler ³, qui donnaient à leurs poules une nourriture contenant une grande quantité de spores, n'ont obtenu aussi que des résultats négatifs.

Les expériences de Perroncito ⁴ (25 poules), Kitt ⁵ (15 poules), Hess ⁶, ont donné également des résultats absolument négatifs, bien que les inoculations multiples fussent faites dans les parties les plus variées du corps : muscles, péritoine, peau, etc. Oemler ⁷, dans son travail sur le charbon chez les oiseaux, arrive à des conclusions un peu différentes. Sur 31 poules qui ont servi à ses expériences, 11 ont succombé au charbon; l'inoculation se faisait avec le sang d'un animal mort du charbon, soit sous la peau, soit dans le cloaque; quelques-unes de ses poules recevaient une nourriture contenant des bacilles. Les unes tombaient malades

1. PASTEUR. *Bulletin de l'Académie de médecine*, 1878.

2. FESER, *Adam's Wochenschr.*, 1879, cité d'après Kitt (v. plus loin).

3. KOCH, GAFFKY, LOFFLER. *Mittheilung, d. Kgl. R. Ges. A.* 1884. T. II.

4. PERRONCITO. *Carbonchio nei polli*, p. 159; et *Carbonchio, mezzi prevent. et curativi*. Torino 1883, cité d'après Kitt.

5. KITT. *Deutsch. Zeitschr. f. Thiermed u. vergleich. Pathol.* 1886.

6. HESS. *Virchow's Archiv*, t. CLX, Heft 3.

7. OEMLER. *Arch. f. Wissenschaft. u. prakt. Thierheilk*, 1877, p. 257-297.

après une seule inoculation, d'autres après deux, d'autres enfin résistaient à des inoculations répétées. Toutefois Hess (*l. c.*) n'attribue pas une grande importance aux expériences que nous venons de rapporter. D'après cet auteur, Oemler, à en juger par les autopsies de ses poules, avait affaire non pas au vrai charbon, mais à l'œdème malin (*malignes OEdem*) auquel les oiseaux ne sont pas réfractaires. Le doute était d'autant plus justifié qu'Oemler affirmait avoir obtenu le développement du charbon chez les grenouilles.

Malgré la résistance considérable que mettent en évidence les faits que nous venons de rapporter, on peut pourtant arriver à infecter les poules en les plaçant dans des conditions un peu particulières. En 1878, Pasteur a démontré que la poule succombe au charbon, si on arrive à abaisser sa température en plongeant, par exemple, le tiers inférieur de son corps dans de l'eau froide. Les poules, fixées dans une position verticale sur des planchettes de bois, et placées dans des seaux remplis d'eau à la température de 25°, succombaient toutes au charbon, tandis que les poules témoins, mises dans les mêmes conditions sans subir d'inoculations charbonneuses, survivaient sans exception.

Colin et Feser (*l. c.*), qui ont reproduit cette expérience fort intéressante de Pasteur, sont arrivés à des résultats négatifs. Le premier, après avoir mis les poules dans des cages ou dans des pots à fleurs pourvus de larges orifices, les plongeait ensuite dans de l'eau à la température de 8 à 10°, de façon que les extrémités seules et la partie inférieure du ventre baignaient dans l'eau. Sur 5 poules qui avaient reçu auparavant une inoculation de charbon, 4 ont survécu; une seule, qui a succombé après un séjour de 48 heures dans l'eau, n'a pas été atteinte de charbon.

Feser mettait ses poules dans des vases à couvercle contenant de l'eau à 11 ou 18°, de façon que le ventre de la poule fût complètement entouré d'eau. Sur 6 poules, 4 ont reçu des inoculations de sang d'une chèvre morte du charbon; pas une seule n'a eu le charbon, mais la réfrigération artificielle a tué deux poules inoculées et une qui ne l'était pas. Plus tard, Feser est arrivé à la conclusion que ces bains froids sont capables de tuer des poules tout à fait bien portantes.

De quoi dépend l'immunité des poules dans les conditions ordinaires? Pourquoi cette immunité disparaît-elle, lorsqu'on

abaisse la température de la poule en la mettant dans de l'eau froide?

La première de ces questions n'a été étudiée au point de vue expérimental que par Hess, dans un travail sur lequel nous aurons à revenir. Les explications que donnent les autres auteurs ne s'appuient que sur des hypothèses. Aussi, avons-nous accepté avec reconnaissance la proposition de M. Metchnikoff, d'étudier ces deux questions au point de vue expérimental.

La fin de notre travail est consacrée à l'étude de l'action de l'antipyrine et du chloral, sous l'influence desquels les poules deviennent capables de contracter le charbon.

I

Quel est, dans les conditions normales, le sort des bactéries charbonneuses, une fois qu'elles ont pénétré dans le corps de la poule?

Pour élucider cette question, nous avons inoculé les poules dans la chambre antérieure de l'œil, sous la peau, et, directement, dans le sang par l'intermédiaire des veines.

Pour les inoculations dans la chambre antérieure, nous introduisions dans l'œil des poules, soit un fil de soie chargé de spores mais ne contenant pas de bacilles charbonneux, soit du sang provenant de lapins et de cobayes récemment morts du charbon. Au bout de 16 à 24 heures, l'œil devenait déjà trouble. Les spores se développaient parfaitement, en se transformant en longs filaments. En examinant, 24 heures après l'inoculation, le fil de soie retiré de l'œil et étalé sur une lamelle, on pouvait voir des amas de filaments entremêlés et entourés d'un grand nombre de leucocytes. Les bacilles empruntés au sang d'animaux morts de charbon, se développaient également fort bien dans la chambre antérieure de l'œil de la poule.

Pour étudier leur vitalité et leur virulence, on retirait à certains intervalles, de l'œil inoculé, des échantillons dont les uns, additionnés de bouillon, étaient mis sous forme de goutte suspendue dans une chambre humide et ensuite à l'étuve, tandis que les autres étaient inoculés directement sous la peau des cobayes.

Si la goutte suspendue donnait un développement de bacilles, elle était à son tour inoculée à des cobayes.

Nous devons faire remarquer ici que, dans ces expériences comme dans celles qui vont suivre, nous ne mettons en ligne de compte que les cas où il n'y avait pas pénétration de bactéries étrangères, et où, par conséquent, il ne s'agissait que de cultures pures de charbon.

Lorsqu'on examine sous le microscope les échantillons provenant de l'œil, on trouve, au bout de 24 heures, une grande quantité de bacilles et de filaments qui se colorent bien au bleu de méthylène; au bout de 48 heures, les bactéries deviennent moins nombreuses et, dans la grande majorité des cas, elles sont contenues à l'intérieur des leucocytes (les microphages sont plus nombreux que les macrophages) dont le nombre a considérablement augmenté; 24 heures encore plus tard, on ne trouve plus de bactéries sous le microscope. Le développement des bactéries dans la goutte suspendue et leur virulence persistent également pendant les premières 48 heures. Pourtant dans un cas, le charbon a conservé sa virulence encore 6 jours après l'inoculation, et un cobaye, inoculé avec la culture développée dans la goutte suspendue, est mort 46 heures après.

Pour les inoculations sous-cutanées, on opérait comme pour celles faites dans la chambre antérieure de l'œil, c'est-à-dire qu'on introduisait sous la peau, soit un fil de soie chargé de spores, soit du sang d'un animal mort de charbon. Au point d'inoculation, il ne se manifestait ordinairement ni œdème ni gonflement, et si, dans certains cas où on se servait du fil de soie, il survenait de la tuméfaction, elle n'était jamais bien marquée. Le fil de soie était ordinairement mis sous la peau de la poitrine de la poule, d'où on le retirait à des intervalles variables afin de le soumettre à l'examen microscopique.

Sur des préparations faites avec le fil de soie 20 heures après son introduction, on voyait une quantité considérable de bacilles et de filaments charbonneux, bien colorés, et entourés de leucocytes parmi lesquels on trouvait en même temps quelques phagocytes; au bout de 30 heures les leucocytes et les phagocytes devenaient plus nombreux; au bout de 48 heures les bacilles et les filaments commençaient à diminuer, tandis que les leucocytes et les phagocytes restaient dans la même proportion; enfin 72 heures après l'inoculation, le fil retiré ne contenait plus de bacilles.

Les résultats qu'on obtient après l'introduction sous la peau

du sang provenant d'animaux atteints du charbon, sont analogues. Pour mieux étudier les relations entre les tissus et les bactéries, nous ne nous sommes pas contentés de l'examen du suc d'organes (préparations par frottement), mais nous avons fait en même temps des coupes de tissus au point d'inoculation. A cet effet, quelques gouttes de sang infectieux étaient introduites entre deux feuillets de la caroncule que les poules présentent de chaque côté de la tête sous le bec, et la caroncule, excisée ensuite à certains intervalles après l'inoculation, était mise dans de l'alcool, fixée dans la paraffine, et les coupes étaient colorées d'après la méthode de Gram avec coloration complémentaire au picrocarmin. Sur les coupes provenant des caroncules, excisées 20 heures après l'inoculation, on voyait (Pl. X, fig. 1) un grand nombre de bacilles et de filaments charbonneux, de même qu'une accumulation considérable de leucocytes qui entouraient de tous les côtés les bacilles en pénétrant en même temps entre eux. Au bout de 48 heures, on trouvait déjà fort peu de bacilles, et ceux qui existaient étaient contenus à l'intérieur des phagocytes (voir fig. 2) parmi lesquels les macrophages prédominaient (voyez fig. 3 et 4). Dans la grande majorité des cas, les bacilles contenus à l'intérieur des phagocytes, et bien colorés, ne présentaient pas de signes de dégénérescence, et avaient conservé leur virulence, car l'ensemencement dans le bouillon du tissu cellulaire sous-cutané au niveau duquel était faite l'inoculation, donnait naissance à des cultures qui tuaient les cobayes dans les 36 à 48 heures. Au bout de 72 heures et quelquefois encore plus tôt, les préparations faites avec le tissu cellulaire sous-cutané ne contenaient plus un seul bacille du charbon.

Hess, (*l. c.*) qui introduisait sous la peau des poules des chambres de Ziegler contenant des cultures de charbon, dit que 12 heures après, un grand nombre de leucocytes pénètre déjà dans la chambre; on ne rencontre des bactériidies libres que là où les leucocytes sont relativement en petit nombre; aux endroits où ils sont nombreux, ils entourent les bactéries en formant des couches épaisses ou en se disposant en chapelet. Quand la pénétration de leucocytes dans la chambre ne rencontrait pas d'obstacle (coagulation de la lymphe autour de la chambre), les bactéries disparaissaient déjà complètement 24 heures après l'introduction de la chambre. Pour démontrer que les bactéries

pouvaient se développer fort bien dans le corps de la poule, Hess a fait les expériences suivantes : une chambre remplie à moitié de cultures de charbon est introduite dans une poche sous-cutanée fraîchement préparée, de sorte que l'autre moitié de la chambre ne tarde pas à se remplir de sang. Dans ces conditions, les bactéries se développaient très rapidement, et même dans le voisinage immédiat de la couche de leucocytes, on voyait se développer les longs filaments du charbon. Hess n'a jamais vu de dégénérescence des bactéries, même 72 heures après l'introduction de chambres dans lesquelles les leucocytes ne pouvaient pénétrer que difficilement, à cause de la coagulation du sang qui s'était faite autour des bactéries. Il n'y avait des signes de dégénérescence que lorsque d'autres bactéries, exerçant une certaine action sur les bactéries charbonneuses, avaient pénétré en même temps dans les chambres.

Dans un cas où, quatre jours après l'inoculation de la poule, il s'était formé au point d'inoculation un kyste limité par le tissu cellulaire sous-cutané et les muscles, Perroncito (*l. c.*) a démontré que les bactéries du kyste n'avaient pas perdu leur virulence et ont pu tuer un cobaye. A part ce kyste, les autres parties du corps de la poule ne contenaient pas de bacilles.

On voit donc que les résultats obtenus par Hess et Perroncito sont analogues à ceux qui découlent de nos expériences personnelles, à savoir que les bacilles du charbon peuvent se développer dans le corps de la poule sans perdre de leur virulence. Si la pénétration des leucocytes dans le point d'inoculation est rendue difficile ou même impossible, les bactéries se développent parfaitement bien, et conservent leur virulence trois à quatre jours et même, dans un de nos cas, six jours après l'inoculation dans la chambre antérieure de l'œil.

Dans les cas où les leucocytes arrivent facilement jusqu'aux bactéries, ces dernières n'ont pas le temps de se développer et disparaissent plus ou moins rapidement du point d'inoculation. Comme nous venons de le dire, dans les expériences de Hess, les bactéries disparaissaient complètement de la chambre humide au bout de 24 heures. Dans nos expériences, que l'inoculation fut faite dans l'œil ou sous la peau, 72 heures après on ne pouvait plus découvrir les bactéries, ni par l'examen microscopique ni par l'ensemencement.

Une question qui nous a paru intéressante est de savoir pendant combien de temps les bactéries se conservent dans l'organisme de la poule, quand elles ont été introduites directement dans le sang. On peut supposer *a priori* que les bactéries trouvent des conditions moins favorables pour leur développement dans le sang que dans la chambre antérieure de l'œil ou dans le tissu cellulaire sous-cutané, parce que, dans le sang ou à l'intérieur des organes, elles se trouvent tout de suite en présence des leucocytes, tandis qu'elles ont le temps de se développer dans l'œil, ou sous la peau, en cas d'inoculation sous-cutanée, avant l'arrivée de leucocytes en nombre suffisant : cette période de liberté est forcément absente lorsque les bactéries sont injectées directement dans le sang.

Les injections étaient faites dans la veine sous-alaire de la poule, avec une émulsion d'organes de cobayes ou de lapins morts du charbon. La quantité de liquide employé variait de 2 à 4^{cc}. Les poules étaient ensuite tuées à des intervalles variables, par la destruction du bulbe. Les cultures obtenues par l'ensemencement du sang, provenant des organes de la poule sacrifiée, sur du bouillon ou de la gélose, étaient inoculées à des cobayes et à des lapins. Dans un cas l'inoculation a été faite avec le foie de la poule qu'on venait de sacrifier.

Le tableau suivant indique le résultat que nous ont donné les expériences.

POULE TUÉE AU BOUT DE :			
6 HEURES	12 HEURES	19 HEURES	66 HEURES
La culture provenant du sang est inoculée à :	Culture faite avec le sang inoculée à :	Un morceau du foie est inoculé à :	L'ensemencement du sang, du foie, de la rate, ne donne pas lieu au développement des cultures.
1. Lapin de 1740 gr. mort en 55 heures. 2. Cobaye de 337 gr. mort en 28 heures.	1. Lapin de 1930 gr. mort en 64 heures. 2. Cobaye de 290 gr. mort en 29 heures.	1. Lapin de 1305 gr. mort en 60 heures. 2. Cobaye de 387 gr. mort en 43 heures.	
Culture faite avec la rate.	Culture faite avec le foie.		
1. Lapin de 2100 gr. mort en 50 heures. 2. Cobaye de 417 gr. mort en 27 heures.	1. Lapin de 1810 gr. mort 10 heures après, mais pas du charbon. 2. Cobaye de 384 gr. mort 30 à 37 heures après.		

On voit donc que les bactéries charbonneuses conservent leur virulence dans le sang et les organes de la poule pendant

49 heures sans subir d'atténuation. 66 heures après, c'est-à-dire vers le quatrième jour, les bactéries sont déjà détruites, de sorte que l'ensemencement du sang et de parcelles d'organes ne donne plus de cultures de charbon.

Sur les préparations faites avec le sang des poules sacrifiées, on ne pouvait pas trouver de bacilles; mais sur celles obtenues avec le suc des organes (préparation par frottement), on trouvait encore quelques bacilles isolés. Les coupes des organes, colorées d'après la méthode de Gram, contenaient toujours des bactéries, à l'exception de celles qui provenaient de la poule tuée 66 heures après l'inoculation.

Chez la poule sacrifiée 6 heures après l'inoculation, les coupes de tous les organes contenaient un grand nombre de bacilles. Sur celles provenant du foie et de la rate, organes qui, comme on sait, contiennent le plus de leucocytes, le plus grand nombre des bacilles se trouvait à l'intérieur des cellules, dans les macrophages et dans les cellules endothéliales des capillaires du foie (voy. fig. 8 et 9), mais en même temps on en trouvait d'autres libres entre les cellules. Les uns et les autres, ceux qui étaient libres et ceux qui étaient contenus à l'intérieur des cellules, se coloraient bien, et ne présentaient pas trace de dégénérescence.

Chez la poule sacrifiée 12 heures après l'inoculation, on trouve déjà moins de bacilles; chez celle tuée 49 heures après l'infection, les bacilles sont difficiles à trouver sur les préparations; ceux qu'on découvre sont tous inclus dans des cellules, surtout dans les macrophages. Les bacilles, dans ces conditions, se colorent mal et présentent un aspect considérablement modifié : les contours sont irréguliers, le corps offre des étranglements, certains paraissent granuleux (voy. fig. 10 et 11). — Mais, comme nous avons déjà vu, ces bacilles ont conservé encore leur vitalité et leur virulence.

Il résulte de ces faits que la destruction des bacilles, introduits directement dans le sang par les leucocytes, se fait plus rapidement que dans le cas où l'inoculation est faite dans la chambre antérieure de l'œil ou même sous la peau.

Si l'on veut se rapporter aux faits que nous venons de signaler, on arrive à la conclusion que l'organisme de la poule n'est pas absolument un milieu impropre au développement du

charbon. Qu'ils se trouvent dans la chambre antérieure de l'œil, dans le tissu sous-cutané ou dans le sang, les bacilles conservent leur virulence pendant un certain temps. Dans la peau et dans l'œil, les spores et les bacilles se développent fort bien. Seulement, à partir du moment où les leucocytes s'accumulent en nombre suffisant au point d'inoculation, la multiplication des bactéries s'arrête, le nombre de celles qui ont atteint leur développement diminue en même temps que les phagocytes contenant des bacilles deviennent plus nombreux. Ces deux phénomènes — augmentation du nombre des leucocytes et diminution de celui des bacilles — se manifestent avec tant d'évidence, surtout sur les coupes faites avec le tissu cellulaire sous-cutané, qu'il est vraiment difficile de nier toute relation entre eux.

Pour élucider définitivement la question de savoir si le sang de la poule est propre ou impropre au développement du charbon, et pendant combien de temps les bacilles conservent leur virulence dans ce milieu, lorsqu'on arrive à abolir l'action des leucocytes, nous avons fait les expériences suivantes. Du sang défibriné, de même que du sérum provenant d'une poule saine, sont ensemencés dans des tubes avec : 1°, des spores fixées sur un fil de soie; 2° avec du sang d'un animal atteint de charbon. Les tubes ainsi ensemencés étaient mis dans l'étuve à la température de 42° à 43° C. (à la température normale de la poule), et des échantillons pris à des intervalles variables étaient ensuite inoculés à des lapins et des cobayes.

Les résultats de ces inoculations se trouvent consignés dans le tableau suivant.

TEMPS QUI S'EST ÉCOULÉ DAPUIS L'ENSEMENCEMENT EN JOURS	SPORES DE CHARBON		SANG D'ANIM. CHARBON.	
	SANG DÉFIBRINÉ	SÉRUM	SANG DÉFIBRINÉ	SÉRUM
1	Cobaye mort au bout de 40 heures.	—	Cobaye mort au bout de 29 à 38 heures.	Cobaye de 395 gr. mort en 32 h.
2	Cobaye mort au bout de 46 heures.	Cobaye mort au bout de 31 à 39 heures.	Cobaye de 440 gr. mort en 31 à 38 h.	—
3	Cobaye mort au bout de 24 à 32 heures.	—	Cobaye de 395 gr. mort en 37 h.	—
4	Cobaye mort au bout de 28 à 38 heures.	—	Cobaye de 275 gr. mort en 46 h.	—
5	Cobaye de 570 gr. mort en 28 à 31 h.	—	Cobaye de 350 gr. mort en 44 h.	—
6	Cobaye de 355 gr. mort en 39 à 41 h.	—	Cobaye de 355 gr. mort en 31 h.	—

TEMPS QUI S'EST ÉCOULÉ DEPUIS L'ENSEMENCEMENT EN JOURS	SPORES DE CHARBON		SANG D'ANIM. CHARBON.	
	SANG DÉFIBRINÉ	SÉRUM	SANG DÉFIBRINÉ	SÉRUM
7	Cobaye de 337 gr. mort en 38 heures.	—	—	Cobaye de 445 gr. mort en 32 à 39 h.
8	—	Cobaye resté bien portant.	Cobaye de 295 gr. mort en 32 à 40 h.	Lapin de 2290 gr. mort au 6 ^e jour (139 heures).
9	Cobaye de 355 gr. mort en 38 heures.	—	—	—
11	Cobaye mort en 58 à 64 heures.	—	—	—
12	—	Cobaye resté bien portant.	—	—
14	—	—	Cobaye de 529 gr. mort en 30 à 37 h.	—
15	—	—	Lapin mort au 4 ^e jour (94 h.).	—
17	Cobaye de 440 gr. mort en 30 à 39 h.	—	—	—
19	—	Cobaye de 462 gr. mort en 39 h.	—	—

Il résulte de ce tableau que les bacilles du sang, cultivés sur du sang défibriné, ont provoqué la mort du cobaye 14 jours et celle du lapin 15 jours après l'ensemencement; ensemencé sur du sérum, le sang charbonneux a tué un cobaye 7 jours et un lapin 8 jours après l'ensemencement. Nous n'avons pas remarqué de diminution de virulence des cultures, pour les cobayes, dans les espaces de temps que nous venons d'indiquer.

D'après Koch, Gaffky et Loeffler (*l. c.*), l'atténuation de la virulence des cultures faites sur du bouillon de poule à 42-43° se fait déjà remarquer au sixième jour. Pasteur a trouvé que la virulence des cultures de charbon sur du bouillon de poule neutre à 42-43°, s'atténue progressivement tous les jours, de sorte qu'au bout de 9 jours les cultures ne sont plus virulentes. Il résulterait donc de nos expériences que la virulence du charbon se conserve plus longtemps dans les cultures faites dans du sang que dans du bouillon de poule.

Nous pouvons confirmer l'opinion de Pasteur, que les bacilles du charbon ne forment pas de spores à la température de 42-43°. En effet, les tubes contenant des cultures de sang charbonneux sur du sérum ou du sang défibriné de poule, ne présentaient pas de spores. L'examen microscopique montrait dans tous les cas des bactéries charbonneuses fortement dégénérées, à côté de bacilles et de filaments normaux et bien développés.

Nous tenons encore à mentionner que les bacilles du charbon se développent fort bien dans l'humeur aqueuse de la chambre antérieure, et dans l'exsudat inflammatoire qui se fait à ce niveau après le traumatisme de l'œil.

Si l'on considère tous ces faits dans leur ensemble, on admettra difficilement l'opinion de Feser et de Kitt, d'après laquelle l'immunité de la poule contre le charbon dépend des propriétés chimiques de son organisme, qui s'opposeraient au développement des bactéries spécifiques.

La façon générale dont l'organisme de la poule réagit contre les inoculations de charbon mérite d'être étudiée en détail. Dans

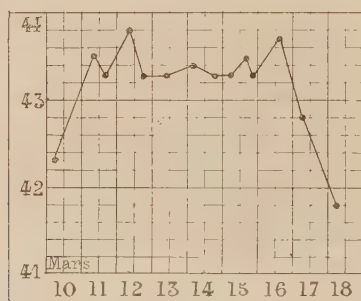


Fig. 1.

les conditions ordinaires, malgré les inoculations faites tantôt dans la chambre antérieure, tantôt sous la peau, tantôt directement dans le sang, inoculations quelquefois répétées deux ou trois fois, pas une de nos poules ne fut atteinte de charbon. *Les poules inoculées avaient de la fièvre.* La température d'une poule saine est comprise entre 41°5 et 42°3, la température du matin étant plus élevée de quelques dixièmes de degré que celle du soir. Après l'inoculation soit des spores, soit du sang infectieux, la température montait d'un, deux, et même de deux degrés et demi, et se maintenait à cette hauteur pendant un, deux ou trois jours pour revenir ensuite à l'état normal; une seule fois la fièvre a persisté pendant 7 jours (v. courbe 1). Il s'agissait dans ce cas de la poule dont nous avons déjà parlé, et chez laquelle la virulence des bacilles a persisté encore 6 jours après l'inoculation faite dans l'œil.

Parmi les courbes thermiques, la courbe de la figure 2 mérite

de nous arrêter un instant. Il s'agit d'un coq qui fut inoculé la première fois dans une veine avec une émulsion d'organes d'un animal charbonneux. La température est montée le lendemain à $44^{\circ}3$ pour retomber le troisième jour à $42^{\circ}2$, chiffre normal. Dix jours après, le même coq fut inoculé avec du sang charbonneux dans la caroncule et dans la chambre antérieure de l'œil : le lendemain on trouve $43^{\circ}4$ et le troisième jour $43^{\circ}8$.

Généralement la chute de la température coïncidait avec la disparition des bactéries du point d'inoculation; la fièvre correspondait à l'accumulation dans le même endroit des leucocytes et à leur activité phagocytaire.

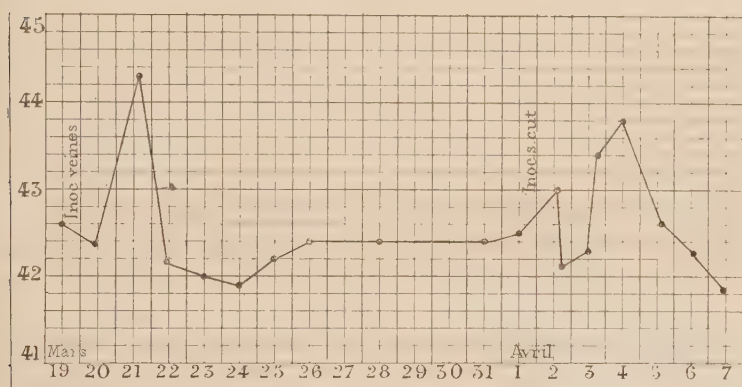


Fig. 2.

Nous devons encore mentionner que la culture du deuxième vaccin charbonneux, inoculée en quantité assez considérable (10 gouttes de culture concentrée sur gélose) sous la peau, dans l'œil et dans le tissu cellulaire sous-cutané, a provoqué chez la poule une élévation thermique de $43^{\circ}4$.

D'après les nouvelles recherches, la fièvre est provoquée par les produits des bacilles, les toxines, qui vont probablement irriter les centres thermiques et provoquent de cette façon une élévation de température. Si l'hypothèse est vraie, on est obligé d'admettre que, même dans le corps d'un animal aussi réfractaire au charbon que la poule, les bactéries continuent à sécréter ces toxines, autrement dit qu'elles ne perdent pas leurs propriétés biologiques.

II

Mes expériences de réfrigération artificielle dans l'eau ont été au nombre de six. Toutes les poules sans exception ont succombé au charbon. Si l'on considère l'immunité considérable contre le charbon dont jouit la poule dans les conditions ordinaires, on est obligé d'admettre que la réfrigération dans l'eau constitue pour elle un agent nocif de premier ordre. Pour ces expériences, je prenais ordinairement deux poules, de mêmes dimensions autant que possible, qui étaient inoculées par la même substance infectieuse dans des endroits identiques du corps. Les poules, enfermées dans des filets dont ne sortaient que la tête et les pattes, étaient ensuite mises dans des seaux, et les filets fixés à une barre transversale posée au-dessus du seau. Deux fois, les expériences ont été conduites d'après le procédé de Pasteur, c'est-à-dire que la poule, couchée sur le dos, était fixée, par les pattes et les ailes, sur une planchette qu'on plaçait ensuite dans l'eau dans une position verticale. Dans un seau, on mettait de l'eau à 25° de façon à ce que la poule ait les pattes et le tiers inférieur de son corps sous l'eau; l'autre seau, où était mise la poule témoin, restait vide. Dans deux cas nous avons encore une deuxième poule témoin qui sans être inoculée, était mise dans un seau, dans les mêmes conditions que la première poule inoculée. Les seaux étaient ensuite mis dans une pièce (étage supérieur de l'étuve de l'Institut Pasteur), où la température varie ordinairement entre 23 et 26°. Deux ou trois fois par jour on retirait les poules, soit pour les nourrir, soit pour prendre leur température (dans le cloaque).

Pour les inoculations faites dans la chambre antérieure de l'œil, sous la peau, ou directement dans le sang, nous nous servions soit des spores de bacilles spécifiques, soit de sang infectieux, soit enfin d'émulsion d'organes d'animaux morts du charbon.

Comme nous venons de le dire, toutes les poules inoculées et soumises à la réfrigération ont succombé au charbon; parmi ces dernières, il y en avait qui avaient très bien supporté auparavant les inoculations charbonneuses. Ainsi, nous avons eu un coq qui a parfaitement supporté deux inoculations antérieures, et qui a succombé à la troisième après avoir été mis dans l'eau. Une fois la poule morte, on prenait du sang dans le cœur pour l'inoculer au

des cobayes. L'époque de la mort de la poule après l'inoculation et la virulence de son sang, sont consignées dans le tableau suivant :

	Poule morte après l'inoculation au bout de :	Cobaye mort après l'inoculation au bout de :
1. Poule inoculée dans l'œil et sous la peau avec quelques gouttes de sang provenant d'un cobaye atteint du charbon.	33 heures.	30 à 33 heures.
2. Poule inoculée avec du sang sous la peau.	28 à 32 heures.	32 heures.
3. Poule inoculée avec du sang dans l'œil et la caroncule.	27 heures.	30 à 38 heures.
4. Poule inoculée dans une veine avec l'émulsion d'organes d'un cobaye charbonneux.	61 à 66 heures.	28 heures.
5. Poule inoculée dans les deux caroncules avec du sang.	31 à 40 heures.	31 à 39 heures.
6. Poule inoculée sous la peau avec des spores.	57 à 65 heures.	34 à 40 heures.

Il résulte de ce tableau que les durées extrêmes de survie pour la poule sont comprises entre 27 et 66 heures après l'inoculation, et de 28 à 40 heures pour les cobayes inoculés avec le sang de la poule. ce qui indiquerait que, par le passage dans le corps de la poule, la virulence du charbon augmente plutôt qu'elle ne diminue. Les poules témoins, celles qui étaient simplement mises dans l'eau sans être soumises à la réfrigération artificielle, ne sont pas mortes.

On peut dire, d'une façon générale, que si l'abaissement de la température se fait lentement, les poules non inoculées, comme le démontrent nos expériences, peuvent rester sans inconvénients graves dans l'eau pendant 4 jours, et que retirées de l'eau au bout de ce temps, elles se remettent encore assez rapidement. Dans le cas contraire, si l'abaissement de la température se fait brusquement, soit parce que la température de l'eau est très basse ou que les parties immergées présentent une surface de réfrigération considérable, la poule succombe fréquemment. La mort des poules, dans les expériences de Feser et Colin, sous l'influence de la seule action de l'eau froide, s'explique par l'abaissement trop brusque de la température des poules, car la température de l'eau dans les expériences de ces savants était de 8, 10 ou 18°. Nous tenons à faire remarquer que les poules qui n'ont pas encore servi à des expériences supportent mieux le séjour dans l'eau que celles qui sont plus ou moins affaiblies par des expériences antérieures.

La température des poules mises dans l'eau, descend

ordinairement, vers le soir du même jour, de 1°, 1°5 et même de 2°; le lendemain, l'abaissement est encore plus marqué et peut atteindre 2, 3 et même 4°. Avant la mort, la température des poules inoculées tombe même au-dessous de 35°. Comme exemple nous donnons ici deux courbes : la courbe de la figure 3 se rapporte à la poule n° 3 de notre tableau, la courbe 4 à la poule n° 6.

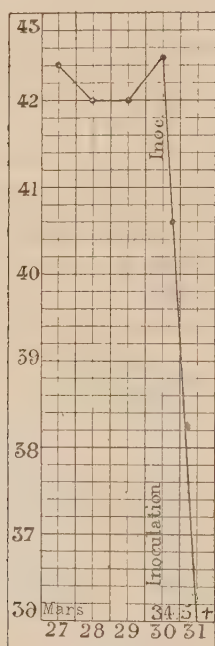


Fig. 3.

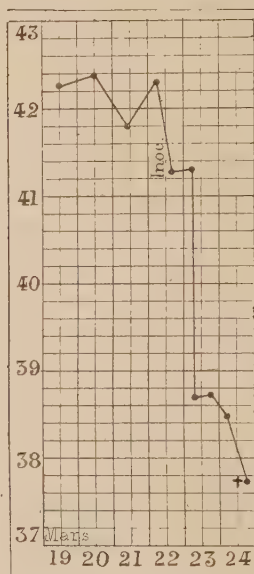


Fig. 4.

Comment expliquer chez les poules la possibilité d'infection par le charbon qui se manifeste sous l'influence du froid?

Comme nous l'avons déjà dit, nous ne possédons que des hypothèses à ce sujet. Pour Colin (*l. c.*), ce n'est pas l'abaissement thermique en lui-même qui joue un rôle dans les expériences de Pasteur, mais plutôt d'autres circonstances, telles que : position anormale de la poule, excitation, privation de nourriture, anémie, etc., conditions qui créent dans le sang de la poule des modifications qui la rendent plus apte au développement du charbon. Pasteur considère les objections de Colin comme peu fondées, d'autant plus que les poules non inoculées, et mises dans les

mêmes conditions, sauf la réfrigération par l'eau, ne succombent pas au charbon. Du reste, nos expériences, où la poule restait très commodément dans le filet, pouvait bien manger et bien boire, sont également en contradiction avec l'explication de Colin.

D'après Koch ¹, chez la poule fixée sur une planchette et mise dans l'eau, il survient des troubles fonctionnels d'ordre général tellement intense, que sa disposition au charbon survenant dans ces conditions ne doit pas nous étonner.

Pasteur a déjà indiqué que dans ces cas il s'agit principalement de l'état de la température ; c'est sous ce rapport seulement que la poule inoculée, non refroidie, et qui ne meurt pas, diffère de celle qui meurt après avoir été baignée dans l'eau froide. Seulement il ne s'agit sans doute pas ici d'une influence directe de l'abaissement de température sur le bacille charbonneux, favorisant son développement ou le maintien de sa virulence, car nous venons de voir que dans les conditions ordinaires, et malgré la température élevée (42°), le charbon peut se développer dans le corps de la poule et conserver sa virulence pendant un certain temps ; d'un autre côté, nous avons vu que les cultures de charbon, développées dans des tubes contenant du sang de poule, à la température de 42 à 43°, sont encore virulentes 15 jours après l'ensemencement. Il y a donc tout lieu de supposer que l'influence de la température sur le développement du charbon dans le corps de la poule est indirecte, et due à certains phénomènes qui doivent être cherchés du côté de l'organisme de la poule lui-même. Il ne saurait être question d'une modification chimique rendant les tissus de la poule plus faciles à envahir chez la poule refroidie, puisque nous venons de voir qu'ils le sont chez la poule normale. Mais on peut penser que chez la première, il y a suppression des obstacles ou des circonstances qui s'opposent au libre développement du charbon chez la dernière. C'est en effet ainsi que les choses se passent, comme nous allons le voir par l'étude comparée des processus chez les poules inoculées, les unes soumises à la réfrigération par les bains froids, les autres laissées telles quelles.

Lorsqu'on inocule quelques gouttes de sang charbonneux dans la chambre antérieure de l'œil de deux poules, dont une

1. Koch, *Ueber die Milzbrandschutzimpfung*. Kassel et Berlin, 1889.

seulement est mise dans le bain froid, on trouve que le lendemain l'œil de la dernière est moins trouble que celui de la poule témoin, et la différence s'accroît encore davantage pendant les 24 heures suivantes. L'examen du contenu de l'œil, fait chez les deux poules, permet facilement de voir que les différences d'intensité tiennent au degré d'accumulation des leucocytes, qui sont bien moins nombreux dans l'œil de la poule soumise à la réfrigération que dans celui de la poule témoin. Au bout de 48 heures, la différence dans le nombre de leucocytes, chez l'une et l'autre poule, s'accroît de la façon la plus marquée. Quant aux bactéries charbonneuses, leur nombre présente des rapports inverses, à savoir qu'elles sont bien plus nombreuses, dans les premières 24 heures, chez la poule réfrigérée que chez la poule témoin, et que leur nombre augmente également dans une proportion considérable chez la première au bout de 48 heures. On peut donc dire que, chez les deux poules, le nombre de bactéries contenues dans l'œil est dans une proportion inverse à celui des leucocytes. Chez la poule témoin, 20 heures après l'inoculation, on trouve déjà des bacilles contenus à l'intérieur des leucocytes, et 24 heures plus tard le plus grand nombre de bactéries est déjà absorbé par les cellules. Chez la poule réfrigérée, on ne trouve des phagocytes ni pendant les premières 24 heures, moins encore plus tard lorsque la température a subi un abaissement considérable.

Pour vérifier cette atténuation de la réaction inflammatoire et de la phagocytose chez les poules réfrigérées, nous avons fait les expériences suivantes. Il s'agissait d'abord de voir si les leucocytes se comportent de la même façon vis-à-vis des particules inorganisées que vis-à-vis des bactéries charbonneuses. A cet effet, nous avons introduit dans la chambre antérieure de l'œil d'une poule, restée depuis 20 heures dans l'eau, et dont la température était tombée à 40°5, de la poudre de carmin stérilisée; la même quantité de poudre était introduite en même temps dans l'œil d'une poule témoin non réfrigérée. Six heures après, on pouvait déjà constater des différences dans le nombre des leucocytes chez les deux poules: chez la poule réfrigérée, les leucocytes étaient bien moins nombreux que chez la poule témoin; dans les deux cas pourtant, les leucocytes contenaient des granulations de carmin. 40 heures plus tard, la différence est devenue encore plus marquée, en même

temps que les leucocytes de la poule témoin paraissaient contenir, chacun, plus de granulations de carmin qu'on n'en trouvait dans les leucocytes de la poule réfrigérée. L'œil de la poule témoin paraissait aussi plus trouble que celui de la poule réfrigérée. La même expérience a été refaite sur l'autre œil de la poule réfrigérée, avec une autre poule témoin, et les résultats furent les mêmes.

Une autre série d'expériences, conduite de la même façon et faite avec les cultures du deuxième vaccin, a donné des résultats semblables, peut-être même encore plus prononcés que dans les expériences précédentes. L'examen microscopique était fait successivement après 6, 21 et 29 heures; la température prise chaque fois était de 40°7, 40°8 et 40°2, chez la poule réfrigérée : de 43°4, 42°6 et 42°4 chez la poule témoin.

Mais il faut dire que, chez la poule réfrigérée, les leucocytes ne perdent pas totalement leurs propriétés phagocytiques. Nous avons pu nous en convaincre lorsque dans l'œil pénétraient des microorganismes étrangers. Ainsi, dans les expériences avec les cultures de vaccin, lorsque 48 heures après l'inoculation la température de la poule était de 39°4, on a trouvé dans le contenu de l'œil un certain nombre de bacilles minces, particuliers. Le lendemain, la température était de 36°3; on trouve peu de leucocytes dans l'œil, mais en revanche un grand nombre d'entre eux contenaient les bacilles en question, dont la plupart étaient, du reste, libres.

Les faits que nous venons de signaler nous ont décidé à étudier la façon dont les leucocytes de la poule réfrigérée se comportent vis-à-vis des bactéries pyogènes qui, comme on sait, possèdent la propriété de provoquer une phagocytose intense. Nous nous sommes servis, pour cette étude, du bacille pyocyanique. Comme dans les expériences précédentes, la température de la poule était d'abord abaissée à 38° (séjour dans le bain pendant 16 heures), et ensuite inoculée, de même que la poule témoin non réfrigérée, avec une culture de 3 jours de ce microbe. L'examen de l'œil, fait 9 heures après l'inoculation, a démontré que le nombre de bacilles et de leucocytes était bien plus considérable chez la poule témoin que chez la poule réfrigérée, et la différence est devenue encore plus accentuée 24 heures après. Remarquons ensuite que, sous l'influence de cette inocula-

tion, la poule témoin a présenté, le soir même de l'expérience, une température de 43°7 qui, au troisième jour après l'inoculation, se maintenait encore à 43°2.

Si l'on inocule avec du sang charbonneux l'une et l'autre poule aux deux caroncules, ce qui présente l'avantage que le liquide infectieux ne se diffuse pas comme cela arrive dans les inoculations sous-cutanées, on est frappé des différences que présentent les coupes de ces organes chez les deux poules, différences faciles à apprécier sur les figures. 20 heures après l'inoculation, on peut trouver, avec un faible grossissement, chez la poule non réfrigérée, un grand nombre de bacilles, mais en même temps un nombre assez considérable de leucocytes (fig. 1); sur des préparations provenant des caroncules de la poule réfrigérée, et faites également 20 heures après l'inoculation, on trouve un nombre bien plus considérable de bacilles qui forment un véritable feutrage, et presque pas de leucocytes (fig. 5). 24 heures plus tard (fig. 2 : fort grossissement), le nombre de leucocytes a encore augmenté chez la première poule : les bacilles sont peu nombreux, presque tous inclus dans des phagocytes (la plupart sont des macrophages), qui contiennent tantôt une, tantôt plusieurs bactéries; chez la poule réfrigérée le nombre de bacilles paraît plutôt augmenté, et, comme auparavant, les leucocytes sont presque totalement absents.

Contrairement à ce que dit Colin, le point d'inoculation chez les poules réfrigérées se tuméfie toujours. Ce phénomène est surtout marqué lorsque l'inoculation est faite dans la caroncule, qui se tuméfie dans ces conditions, et atteint quelquefois des dimensions deux ou trois fois plus grandes qu'à l'état normal. Le gonflement ne dépend pas, comme on pourrait le penser, de l'infiltration : il est dû plutôt à l'œdème, qui n'est pas sans analogie avec celui qu'on observe chez des animaux sensibles au charbon, tels que moutons, cobayes, lapins, etc. Sous le microscope (voy. fig. 5, 6), cet état se manifeste par l'augmentation des espaces entre les faisceaux de tissu conjonctif dont se compose essentiellement la caroncule.

L'examen du sang des poules réfrigérées mortes du charbon, a montré l'existence dans ce liquide d'un nombre plus ou moins considérable de bactéries charbonneuses. Ces dernières existent encore dans le sang de la poule quelques heures avant

la mort. L'examen des coupes des organes qui, dans la plupart des cas, étaient congestionnés, hypertrophiés, donnait chez ces poules le même tableau, lorsque les poules étaient inoculées dans la chambre antérieure de l'œil ou dans le tissu cellulaire sous-cutané. Dans les cas où les inoculations étaient faites directement dans le sang, les coupes des organes présentent un tableau un peu différent, mais qui est parfaitement compréhensible au point de vue de la phagocytose.

Dans le premier cas, les organes contiennent des bacilles qui presque tous sont libres et se trouvent dans les vaisseaux (voy. fig. 12, foie); autrement dit, le tableau est celui que nous trouvons chez des animaux sensibles au charbon, comme le lapin, le cobaye, etc. Dans l'autre cas, à côté des bacilles normaux, non modifiés, libres dans les vaisseaux, on en rencontre d'autres contenus dans des cellules (macrophages) et présentant des contours irréguliers : ces bacilles se colorent mal et présentent en général tous les signes de la dégénérescence. L'explication de ce phénomène est la suivante : dans le premier cas, les bacilles pénètrent du point d'inoculation dans la circulation générale et par conséquent dans les organes, au moment où la température de la poule commence à descendre et l'action phagocytaire à baisser : aussi les bacilles restent-ils libres sans subir de dégénérescence; dans le second cas, lorsque les bacilles sont introduits directement dans le sang de la poule qui n'a pas encore eu le temps de se refroidir, ils se trouvent tout de suite en face de leucocytes vigoureux qui les absorbent et leur font subir les modifications qui se manifestent pour nous comme celles de la dégénérescence.

En résumant ce que nous venons de dire, on arrive à la conclusion que si la poule succombe au charbon sous l'influence de l'abaissement de température, cela tient à ce que l'hypothermie diminue la mobilité et les fonctions phagocytaires des leucocytes. Dans les conditions ordinaires, la poule, grâce à ses leucocytes, est capable de soutenir la lutte avec les bactéries charbonneuses introduites dans son organisme, lutte dont elle sort toujours victorieuse. Mais lorsque la température de la poule est abaissée, et que les leucocytes ne peuvent plus lutter contre les bactéries avec autant de succès qu'auparavant, la poule périt. Dans le cas où l'action du phagocyte est presque abolie, la poule res-

semble à un milieu de culture dans lequel les bacilles peuvent se développer sans entraves.

La diminution de l'activité fonctionnelle des leucocytes que nous avons observée dans nos expériences confirme en quelque sorte les recherches de Max Schultze, qui a trouvé que les leucocytes sont plus mobiles à une température de 45° à 46° qu'à des températures moins élevées. Nos recherches confirment en même temps l'opinion émise par le professeur Metchnikoff (*Fortschritte der Medicin*, 1884, n° 17), et par Hess (*l. c.*), à savoir que, dans le cas de réfrigération, la mort de la poule dépend de la diminution de l'énergie des leucocytes.

III

Au lieu d'abaisser, par des bains froids, la température des poules inoculées avec du charbon, nous avons eu l'idée d'essayer dans le même but les antipyrétiques. Parmi ces substances, l'antipyrine nous a paru comme la plus appropriée. Les sels de quinine exercent une action très intense sur les poules. Ainsi une de nos poules est morte une demi-heure après l'injection sous-cutanée d'une solution de 0 gr. 16 de chlorhydrate de quinine : au bout de dix minutes, elle ne pouvait plus se tenir debout, et restait tout le temps couchée sur le côté; il y a eu en même temps du tremblement de la tête et des extrémités; à l'autopsie, on a trouvé le cœur contracté, arrêté en systole. Une autre, après une dose de 0 gr. 07, a présenté un abaissement de température de 2°; elle ne pouvait pas non plus se tenir debout, tremblait, et ne s'est remise qu'au bout de 3 heures; quand elle a recommencé à marcher, sa température était de 40°7. La même poule, après une dose de 0 gr. 24, restait encore sans mouvements au bout de 2 heures, avec une température de 38°4; au bout de 8 heures, bien que la température se soit élevée à 42°6, la poule ne pouvait encore marcher. Nous n'avons pu nous servir d'antifébrine, ni de phénacétine, à cause de leur peu de solubilité dans l'eau et de l'impossibilité de les introduire sous la peau en quantité suffisante.

Les poules supportent bien mieux l'antipyrine que la quinine. Après une dose de 0 gr. 50 (solution à 50 0/0, une seringue de

Pravaz), les poules préfèrent rester accroupies, mais elles peuvent pourtant marcher lorsqu'on les chasse. Avec deux seringues de Pravaz, soit avec un gramme d'antipyrine, on obtenait chez quelques poules, surtout chez les petites, des phénomènes d'intoxication : la poule ne pouvait plus se tenir debout, sa tête portée en arrière exécutait des mouvements de rotation, quelquefois on observait même des convulsions. Ces phénomènes disparaissaient ordinairement au bout de 2 à 3 heures, tandis que l'abaissement de la température se maintenait pendant 8, 10 et même 12 heures.

Pour apprécier plus exactement l'action de l'antipyrine, nous avons pris la température des poules toutes les heures après l'injection, et nous avons trouvé que la température qui, avant l'injection de la valeur d'une seringue de Pravaz, était de 42°

était 1 heure après de 40°1

2	»	»	39°8
3	»	»	39°8
4	»	»	41°9
6	»	»	42°

c'est-à-dire que la température ne redevenait normale qu'au bout de 6 heures.

L'injection de la valeur de deux seringues de Pravaz nous a donné des résultats analogues. Ainsi, la température de la poule qui avant l'injection était de 42°1,

était 1 heure après de 39°4

2	»	»	39°2
3	»	»	39°
4	»	»	40°4
6	»	»	40°4
7	»	»	40°5
8	»	»	40°5

Pour entretenir l'abaissement constant de la température, il a donc fallu faire de nouvelles injections au moment où la précédente ne faisait plus sentir son action antithermique. Ceci n'était pas sans présenter certaines difficultés. Sans parler de ce que toutes les poules ne se comportent pas de la même façon envers l'antipyrine, dont la même dose provoque des effets variables comme durée, il ne nous a guère été possible de sur-

veiller les animaux pendant la nuit, de sorte que très souvent, vers le matin, on trouvait une température normale et quelquefois même de l'hyperthermie. Pour obtenir le même abaissement de température chez les poules inoculées et chez celles qui ne l'étaient pas, on était obligé de donner aux premières des doses plus considérables d'antipyrine, car chez elles on avait encore à combattre le mouvement fébrile provoqué par l'inoculation du charbon. Ordinairement nous introduisions par jour, sous la peau, à plusieurs reprises, la valeur de 5 seringues de Pravaz d'une solution d'antipyrine à 50 0/0, c'est-à-dire une dose que les poules témoins supportaient fort bien. Les inoculations se faisaient avec du sang provenant de lapins charbonneux, soit dans la chambre antérieure de l'œil, soit sous la peau (poitrine, caroncule). Le nombre des poules inoculées et ayant subi les injections d'antipyrine a été en tout de 11. Sur ce nombre, 6 ont eu le charbon, dont 5 ont succombé et une seule a survécu. Parmi ces 5 se trouvaient 2 poules qui auparavant avaient déjà été deux fois inoculées du charbon, mais sans succès. L'existence du charbon chez ces poules a été vérifiée, non seulement par l'examen microscopique et l'ensemencement du sang et de parcelles d'organes, mais aussi en inoculant à des cobayes du sang pris dans le cœur de la poule. Chez 2 poules (nos 8 et 10 du tableau suivant), le microscope a démontré la présence d'un petit nombre de bacilles dans les organes; l'ensemencement fait avec des parcelles de foie et de rate a donné lieu au développement de cultures charbonneuses qui, inoculées à des cobayes, n'ont pas tué les animaux. Dans un cas (n° 4), la poule n'a succombé au charbon qu'après deux inoculations et deux injections d'antipyrine. La poule n° 6, dont le sang contenait des bacilles, mais qui a survécu, a succombé après la deuxième inoculation, non pas au charbon, mais à la dose considérable d'antipyrine qui lui a été injectée dans l'espace de 3 jours (la valeur de près de 15 seringues de Pravaz). Chez les autres poules (nos 7, 9, 11), nous ne sommes pas arrivés à provoquer le charbon : deux ont survécu, la troisième a succombé à la dose considérable d'antipyrine (7 seringues) qui lui a été injectée dans l'espace de 50 heures.

Nous avons consigné les résultats de nos expériences dans le tableau suivant :

NUMÉROS ET POINTS D'INOCULATION	INJECTION D'ANTI-PYRINE	DOSE D'ANTI- PYRINE EN GRAMMES	SORT DE LA POULE AINSI TRAITÉE	SORT DU COBAYE INOCULÉ
1. Caroncule.	Simultanée.	2.5	Morte ch. en 37 à 43 heures.	Inoc. avec sang de la poule, mort 42 h. après.
2. Œil et sous la peau.	Id.	2.75	Morte ch. en 32 heures.	Inoc. avec sang de la poule, mort en 36 h.
3. Caroncule et sous la peau.	Id.	2.5	Morte ch. en 44 heures.	Inoc. avec sang de la poule, mort en 36 à 42 heures.
4. Caroncule.	20 h. après l'inoc.	4.25 en 49 h.	A survécu.	—
4 bis. La même poule, inoc. sous la peau.	Simultanée.	3.0	Morte ch. en 44 heures.	Inoc. avec sang de la poule, mort en 52 à 62 heures.
5. Sous la peau.	Id.	3.25	Morte ch. en 26 à 28 heures.	Inoc. avec sang de la poule, mort en h.
6. Caroncule et sous la peau.	Id.	2.0 en 24 h.	A survécu : bac- illes dans le sang ap. 26 et 48 heures.	Inoc. avec cu. res prov. du sang de la poule, 2 cobayes : l'un mort en 56 h. l'autre en 115.
6 bis. La même poule, inoc. sous la peau.	Id.	7.25	Morte ch. en 3 j. et demi.	Inoc. avec sang de la poule; a survécu.
7. Sous la peau.	Id.	7.5 en 70 h.	A survécu.	—
8. Sous la peau.	Id.	5.5	Morte ch. (?) ap. 57 heures.	Inoc. avec sang de la poule, a survécu.
9. Caroncule.	20 h. après l'inoc.	3.5	Morte ch. en 50 heures.	2 cobayes inoc. avec cultures provenant du foie et de la rate ont survécu.
10. Caroncule et œil.	Simultanée.	3.0	Morte ch. (?) ap. 24 heures.	Id.
11. 2 caroncules.	Id.	3.75 en 72 h.	A survécu.	Id.

Ces expériences sont trop peu nombreuses pour nous dire si la virulence du charbon chez les poules s'atténue ou augmente, sous l'influence de l'antipyrine. Tout porte à croire que le virus s'atténue plutôt. Dans un cas seulement, la mort du cobaye est survenue 36 heures après l'inoculation; dans les autres cas, la survie du cobaye était plus longue et a même atteint 115 heures chez le cobaye inoculé avec la culture du sang venant de la poule n° 6. Chez les poules nos 8 et 10, la virulence a totalement disparu : les cultures faites sur du bouillon et des plaques de gélatine montraient sous le microscope un aspect tout à fait normal, et pourtant les deux cobayes inoculés avec ces cultures ont survécu.

Comment expliquer que la poule devienne, sous l'action de l'antipyrine, capable de contracter le charbon ?

Si l'on examine aux mêmes époques ce qui se passe au point d'inoculation chez la poule qui a reçu de l'antipyrine, et que nous appellerons antipyrinisée, et chez celle qui ne l'est pas, on retrouve les mêmes différences que nous avons déjà signalées

chez la poule réfrigérée par l'eau froide et chez celle qui n'était pas soumise au bain froid; seulement cette différence est moins prononcée dans le cas d'abaissement thermique par l'antipyrine que par le bain froid.

Si l'on examine, 20 heures après l'inoculation, l'œil de la poule témoin, on trouve un grand nombre de bacilles, mais en même temps un certain nombre de leucocytes. Chez la poule antipyrinisée, on trouve bien plus de bacilles et un nombre moins considérable de leucocytes. 44 heures après, on trouve très peu de bacilles dans l'œil de la poule témoin, et un nombre considérable de phagocytes; aussi l'œil est-il très trouble. Chez la poule antipyrinisée, le nombre de bacilles n'a pas diminué, tandis que celui de leucocytes est moins grand et, en outre, il devient de plus en plus rare d'en trouver contenant des bacilles; en même temps l'œil est moins trouble. Les mêmes différences s'observent dans le tissu cellulaire sous-cutané. Chez les poules antipyrinisées et inoculées dans la caroncule, cette dernière se tuméfie en même temps qu'un gonflement se manifeste dans le tissu cellulaire sous-cutané, phénomène qui, comme chez les poules réfrigérées par l'eau froide, dépend, non pas de l'infiltration par les leucocytes, mais de l'œdème dans le sens propre du mot. Sur la figure n° 7 qui présente la coupe d'une caroncule dans laquelle a été inoculé le sang d'une poule succombée 26 à 28 heures après l'inoculation, on voit une quantité considérable de bacilles et seulement quelques leucocytes isolés. La figure 1 présente la coupe transversale de la caroncule de la poule témoin, coupe qui fut faite presque au bout du même temps que dans le cas précédent (20 heures). Les différences qu'on constate à l'inspection de ces deux figures peuvent servir de type pour les autres cas.

On peut donc conclure de ces faits que, sous l'influence de l'antipyrine, l'activité fonctionnelle des leucocytes s'atténue d'une façon analogue à celle que nous avons déjà vue chez les poules réfrigérées par les bains froids, avec cette différence que l'action de l'antipyrine sous ce rapport est moins marquée que celle du bain froid. — La question de savoir si l'affaiblissement fonctionnel des leucocytes dépend directement de l'antipyrine, ou seulement de l'abaissement thermique produit par l'antipyrine, est difficile à résoudre dans l'un ou l'autre sens; il serait plus juste d'admettre que les deux actions agissent simultanément et à la fois.

Il faut pourtant dire que les différences qu'on constate sous le microscope, entre la poule antipyrinisée et la poule témoin, ne sont pas toujours marquées d'une façon égale dans tous les cas. Ici les différences ne sont ni aussi constantes, ni aussi accentuées que dans les cas où l'abaissement thermique était obtenu par le bain froid. On s'explique ce fait lorsqu'on compare les courbes thermiques provenant des poules antipyrinisées et des poules réfrigérées par l'eau froide (comp.

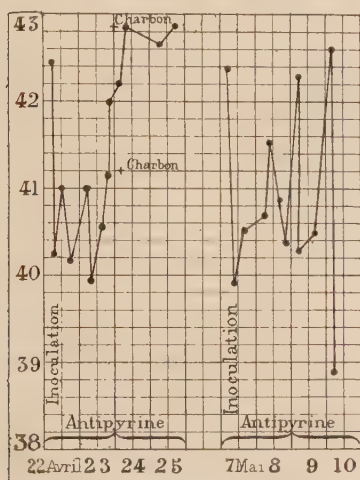


Fig. 5.

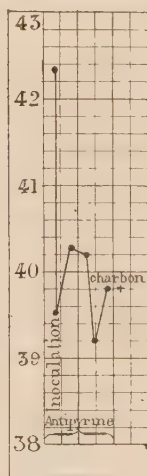


Fig. 6.

les courbes 3 et 4 avec 5 et 7). Chez les premières, la température descendue à un certain niveau, s'y maintient pendant quelque temps, ou bien descend même encore plus bas, mais en tout cas ne monte jamais ; autrement dit, chez ces poules la réfrigération est continue, progressive. Aussi, dans ces cas, l'atténuation de l'activité des leucocytes est-elle également continue, progressive, de sorte que si les leucocytes n'ont pas eu le temps de s'accumuler au point d'inoculation et de commencer leur activité phagocytaire au moment où la poule n'est pas encore réfrigérée, ils le pourront encore moins plus tard. Il n'en est pas de même chez la poule antipyrinisée. A mesure que l'antipyrine est éliminée, la température du corps monte, et un nouvel abaissement thermique ne se manifeste qu'après une autre dose d'antipyrine : aussi les courbes présentent-elles des oscillations considérables, comme on peut le voir sur la courbe n° 5 (poule n° 6 du tableau précédent). Ces oscillations ne sont pas sans agir sur les

leucocytes. Leur activité, diminuée au moment de l'abaissement thermique, augmente pendant l'élévation de température ; aussi les leucocytes ont-ils le temps de s'accumuler pendant ces intervalles aux points d'inoculation, et de rendre par conséquent moins marquées les différences entre les poules antipyrinisées et leurs poules témoins, qu'entre les poules réfrigérées par l'eau froide et leurs poules témoins. On comprend que ces différences peuvent être plus ou moins grandes, en rapport avec la durée des intervalles et l'état de la température à ce moment.

Dans le sang des poules antipyrinisées ayant succombé au charbon, on trouve peu de bacilles, et si l'on se contentait de l'examen microscopique seul, ils pourraient même échapper complètement à l'observation. Comme nous l'avons déjà dit plus haut, nous faisons toujours desensemencements de parcelles d'organes et des inoculations aux cobayes.

Au point de vue microscopique, les organes de ces poules étaient toujours hypertrophiés, congestionnés ; le foie présentait quelquefois une teinte jaunâtre. Sur les coupes de ces organes, on trouvait bien moins de bacilles que dans les cas où il s'agissait des poules réfrigérées par l'eau froide, en même temps que leur distribution était un peu différente. Tandis que chez les poules réfrigérées les bacilles étaient presque toujours libres dans les vaisseaux, chez les antipyrinisées, à côté des bacilles libres, on en rencontrait d'autres contenus dans des macrophages. Cette différence s'explique parfaitement si l'on veut se rappeler que, tandis que chez les poules réfrigérées la phagocytose est presque abolie et les leucocytes fortement affaiblis par l'abaissement continu de la température, chez les poules antipyrinisées la phagocytose n'a pas disparu, seulement elle est fortement atténuée.

On peut encore se demander pourquoi, parmi les poules qui ont subi des injections d'antipyrine, toutes n'ont pas eu le charbon ?

On peut très bien supposer que, sans parler des prédispositions individuelles, l'activité des leucocytes n'était pas affaiblie de la même façon dans tous les cas. Les courbes thermiques des poules atteintes de charbon et de celles qui sont restées indemnes confirment en partie cette supposition. Dans le premier cas, la courbe, d'après son caractère, se rapproche de celle que nous avons obtenue chez des poules soumises à la réfrigération dans le bain froid : on ne trouve ici ni oscillations très marquées

(voy. courbe 6, de la poule n° 3 du tableau) ni intervalles fébriles pendant lesquels l'activité fonctionnelle des leucocytes s'exagère, et la courbe présente une descente plus ou moins régulièrement progressive. Dans l'autre cas, l'abaissement de température est peu marqué, ou bien les oscillations sont très prononcées

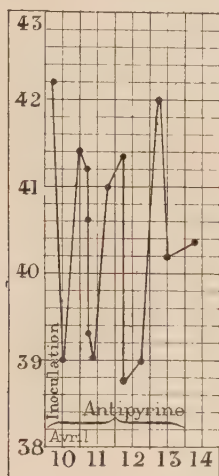


Fig. 7.

(voy. courbes 5, 7). Pendant ces intervalles, caractérisés par une élévation thermique, et dont la durée pouvait être assez marquée (la nuit), les leucocytes avaient probablement le temps de détruire les bactéries qui s'étaient développées pendant l'atténuation de l'activité des phagocytes, et la poule survivait.

A l'exception de deux cas, les injections d'antipyrine étaient faites immédiatement après les inoculations de charbon. Les deux poules, chez lesquelles l'injection d'antipyrine a été faite 20 heures après l'inoculation, n'ont pas été atteintes du charbon. Comme nous l'avons déjà dit plus haut, 20 heures après l'inoculation, on trouvait ordinairement au point d'inoculation un certain nombre de leucocytes qui manifestaient déjà leur activité fonctionnelle. Chez ces deux poules où l'activité des leucocytes ne fut pas atténuée dès le début, nous avons eu par conséquent moins de chances de les voir succomber au charbon.

Dans un cas où la poule a été inoculée à la caroncule et sous la peau avec du sang provenant d'un animal atteint du charbon (courbe 5 du n° 6 de notre tableau), la caroncule a fortement

enflé le lendemain, ce qui indiquait un processus local très intense. Dans les 21 heures qui ont suivi l'inoculation, la poule a reçu 4 grammes d'antipyrine : le sang pris au niveau de la crête et examiné 26 heures après l'inoculation, contenait un grand nombre de bacilles. Les injections d'antipyrine ont été arrêtées, de sorte que vers le soir la température est remontée à 42°. Le lendemain, c'est-à-dire 44 heures après l'infection, la poule était mieux portante. Son sang, contenant des bactériidies, futensemencé sur du bouillon, et les cultures qui se sont développées, injectées à deux cobayes, ont amené la mort de ces animaux. Au bout de 48 heures après l'inoculation, la température de la poule a dépassé la normale, et a atteint 42°9, chiffre auquel elle s'est maintenue pendant les jours suivants. Grâce à cette élévation thermique, les leucocytes ayant recouvré leur énergie vitale, ont pu détruire les bacilles développés dans le sang, et la poule a guéri. 44 heures après l'inoculation, les dimensions de la caroncule tuméfiée ont commencé à diminuer ; sur des préparations de caroncule, on voyait un grand nombre de phagocytes dont quelques-uns étaient remplis de bacilles. Notre cas confirme complètement le fait indiqué par Pasteur, à savoir qu'une poule réfrigérée, dont le sang contient des bacilles, peut parfaitement guérir si on la retire de l'eau et la réchauffe d'une façon artificielle.

Les faits que nous avons rapportés, et qui prouvent que sous l'influence de l'antipyrine les poules deviennent capables de contracter le charbon, ne sont pas contraires aux faits signalés par Alexander (*Bresl. Artzl. Zeitschrift*, 1884, n° 11), à savoir que, dans la fièvre récurrente, le nombre de spirochètes augmente lorsqu'on arrive à abaisser la température par l'antipyrine.

IV

En admettant que c'est par l'affaiblissement de l'activité des leucocytes que les poules sont capables de contracter le charbon sous l'influence de l'abaissement de température par l'eau froide ou l'antipyrine, il nous a paru intéressant de trouver des substances qui, sans abaisser la température du corps, agiraient sur l'activité des leucocytes de façon à favoriser le développement du charbon. Nous nous sommes donc adressés à cet effet aux narcotiques. Des expériences préparatoires nous ont démontré que les poules sont fort peu sensibles à l'action de la mor-

phine. Des doses de 0 gr. 06, 0 gr. 12, 0 gr. 18 de chlorhydrate de morphine restent sans effet, et la poule continue à courir et à se mouvoir très librement. Avec des doses de 0 gr. 24 à 0 gr. 30, la marche de la poule paraît un peu moins solide, et l'animal paraît préférer rester assis; mais si on le touche, il saute de suite et s'en va. Deux expériences dans lesquelles les poules, après l'inoculation du charbon, ont reçu chacune 0 gr. 48 de chlorhydrate de morphine dans l'espace de 26 heures, ont donné des résultats négatifs, et la caroncule au niveau de laquelle l'inoculation était faite ne présentait pas trace d'œdème. La température de ces deux poules n'était pas abaissée.

Par contre, les poules sont très sensibles à l'action de l'hydrate de chloral. Dans un cas, la poule a succombé 1 heure après l'injection sous-cutanée de 0 gr. 50 de chloral, après avoir été prise de vomissements, de diarrhée, de somnolence. Avec 0 gr. 06, la poule ferme les yeux après 15 à 30 minutes, et sommeille soit couchée sur le côté, soit assise; les réflexes sont conservés, et si on la touche, elle ouvre les yeux, fait mouvoir les pattes, bat des ailes, mais ne peut pas se lever; aussitôt qu'on la laisse tranquille, elle retombe dans le sommeil qui, avec 0 gr. 06, dure de 8 à 12 heures; avec les doses de 0 gr. 12 à 0 gr. 18, le sommeil est plus profond et dure plus longtemps, quelquefois pendant 24 heures. Si l'on fait de temps en temps des injections de chloral, on arrive à prolonger le sommeil de la poule pendant plusieurs jours.

Nos expériences portèrent sur 8 poules qui furent inoculées avec le charbon et soumises à l'action du chloral. Les inoculations du sang des animaux charbonneux étaient faites dans l'œil, sous la peau, dans la caroncule. Sur ces huit poules, une seule a succombé au charbon (voyez courbe n° 8). Le lendemain de l'inoculation, la température est montée à 43°7; 24 heures après, la température a baissé vers le matin pour atteindre de nouveau un chiffre très élevé vers le soir. La poule est morte de 57 à 64 heures après l'inoculation, et pendant ce temps elle a reçu 0 gr. 54 de chloral. La poule témoin qui, sans être inoculée, a reçu la même dose de chloral, a survécu; une autre poule qui a été inoculée avec la même substance et au même endroit que la poule qui a succombé, a survécu malgré les 0 gr. 60 de chloral qu'elle a reçus dans les 92 heures. Chez la

poule qui a succombé, on a constaté un gonflement de la caroncule, que nous avons déjà vu chez les poules réfrigérées par le bain froid ou l'antipyrine. — Dans l'œil, on a trouvé un développement considérable de bacilles; le sang pris au niveau de la crête, pendant la vie de la poule, 53 heures après l'inoculation, conte-

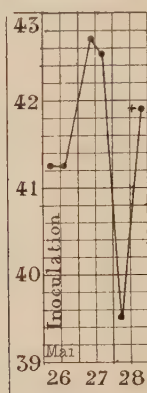


Fig. 8.

nait un grand nombre de bactéries charbonneuses. L'ensemencement de parcelles d'organes et du sang provenant du cœur, a donné naissance à une culture abondante de charbon, qui, inoculée à un cobaye, a provoqué la mort de l'animal au bout de 36 heures.

Le foie et la rate étaient considérablement hypertrophiés et congestionnés. Sur les coupes des organes, la distribution des bacilles, assez nombreux, était semblable à celle que nous avons vue chez les poules antipyrinisées, c'est-à-dire qu'à côté des bacilles libres, on en rencontrait qui étaient renfermés, comme dans le foie, dans des macrophages.

Sur les 7 autres poules, 3 ont succombé: la première, après avoir reçu 0 gr. 72 de chloral dans 5 jours 1/2; la seconde, après 0 gr. 36 dans 31 heures; la troisième, après 0 gr. 36 dans 4 jours; 4 ont survécu. Sur ces dernières, 3 ont présenté, au début, un gonflement de la caroncule, ce qui parlait en faveur du développement intense du charbon; mais au bout de 3 jours, le gonflement commençait à disparaître progressivement.

Chez toutes les poules, la température, qui montait ordinairement de 1° ou de 1° 5 deux ou trois jours après l'inoculation, commençait ensuite à descendre, ce qui dépendait probablement de l'absence des mouvements, du jeûne, de l'affaiblissement des

forces, résultant d'un sommeil prolongé, presque ininterrompu. Si le nombre de poules atteintes de charbon sous l'influence du chloral est relativement peu marqué (1 sur 8), c'est que le chloral agit d'abord et principalement sur le système nerveux, et que les quantités nécessaires pour anésthésier les leucocytes étaient capables de paralyser auparavant le système nerveux central de la poule.

Les leucocytes ne sont pas influencés par des petites doses de chloral ou d'antipyrine, comme le démontrent les recherches récentes du Dr Gabritchevsky (*Annales de l'Institut Pasteur*, 1890, n° 6) et de Massart et Bordet (*Société Royale des sciences médicales et naturelles de Bruxelles*, 1890, t. V). Le premier, en introduisant sous la peau de grenouilles et de lapins des tubes capillaires remplis de substances différentes, et entre autres d'antipyrine en solution à 1 0/0, jugeait d'après le nombre de leucocytes entrés dans ces tubes, la valeur chimiotaxique de ces substances. A ce point de vue, cet auteur arrive à la conclusion que l'antipyrine ne possède de propriétés chimiotaxiques ni positives ni négatives, et que sous ce rapport elle serait neutre.

Massart et Bordet injectaient sous la peau de grenouilles 1 cent. cube d'une solution d'hydrate de chloral ou d'antipyrine à 1 0/0, et une heure après, lorsque la substance avait eu le temps de pénétrer l'organisme, ils introduisaient dans le péritoine des animaux des tubes capillaires remplis de cultures du *staphylococcus pyogenes albus*. Au bout de 24 heures, les tubes contenaient ordinairement un grand nombre de leucocytes. Les auteurs concluent de leurs expériences que « ces substances laissent intact le chimiotaxisme des globules blancs ». Nous croyons que les résultats négatifs au point de vue de l'action de l'antipyrine et du chloral sur les leucocytes, s'expliquent par ce fait que Gabritchevsky, comme Massart et Bordet, ont employé ces substances en solutions trop faibles.

Du reste, en employant le chloroforme et la paraldéhyde, Massart et Bordet ont obtenu des résultats bien différents. En plongeant les grenouilles dans l'eau chloroformée ou dans une solution de paraldéhyde, ils ne trouvaient pas un seul leucocyte dans les tubes retirés du péritoine des grenouilles.

Les expériences que nous avons exposées dans notre travail ont prouvé qu'une anesthésie semblable à celle provoquée par le

chloroforme ou la paraldéhyde, peut être obtenue par des doses élevées d'antipyrine ou de chloral.

Les résultats de nos expériences sur 46 poules peuvent être résumés dans les conclusions suivantes :

1° Dans les conditions ordinaires la poule est réfractaire au charbon. L'immunité est due à l'activité phagocytaire des leucocytes ;

2° Le bacille charbonneux peut se développer et conserver sa virulence dans le corps de la poule ; son inoculation n'est pas un phénomène indifférent et s'accompagne de réaction fébrile ;

3° La poule peut être atteinte de charbon et y succomber lorsqu'elle est privée du concours salutaire des leucocytes. Ces conditions se trouvent réalisées : (a) au mieux par la réfrigération de la poule par le bain froid, circonstances dans lesquelles toutes les poules succombent (6 sur 6) ; (b) par l'action de l'antipyrine qui donne une mortalité moindre (6 sur 11) ; (c), par le chloral, dont l'action est encore moins marquée (1 sur 8 comme mortalité).

En terminant ce travail fait sous la direction de M. Metchnikoff, nous tenons à le remercier bien sincèrement pour ses conseils et indications précieuses.

EXPLICATION DE LA PLANCHE X

Fig. 1. La caroncule d'une poule témoin, 20 heures après l'inoculation. Grossissement, 3 + D.

Fig. 2. La même, 44 heures après l'inoculation. — 2 + 1/18.

Fig. 3, 4. Deux macrophages provenant de la même caroncule, 44 heures après l'inoculation. — 2 + 1/18.

Fig. 5. Caroncule d'une poule réfrigérée, 20 heures après l'inoculation — 3 + D.

Fig. 6. La même, 44 heures après l'inoculation. — 2 + 1/18.

Fig. 7. Caroncule d'une poule ayant reçu de l'antipyrine. — 2 + 1/18.

Fig. 8. Foie d'une poule témoin, 6 heures après l'inoculation dans le sang. — 2 + 1/18.

Fig. 9. Macrophage provenant du même foie. — 3 + 1/18.

Fig. 10, 11. Vaisseau du foie d'une poule témoin, 49 heures après l'inoculation dans le sang. — 2 + 1/18.

Fig. 12. Foie d'une poule réfrigérée, morte de 31 à 40 heures après l'inoculation sous la peau. — 2 + 1/18.

Fig. 13. Vaisseau du foie d'une poule réfrigérée, morte de 61 à 66 heures après l'inoculation dans le sang. — 2 + 1/18.

Fig. 14. Macrophage provenant du même foie. — 2 + 1/18.

STATISTIQUE DE L'INSTITUT PASTEUR DE LA SOCIÉTÉ MÉDICALE DE CHARKOW, EN 1889

PAR M. LE D^r WYSOKOWICZ

L'Institut Pasteur, fondé à Charkow par la Société médicale, a commencé à fonctionner en 1887. M. Protopopoff en a donné les premiers résultats dans les *Travaux de la Société médicale de Charkow*. Je me propose de publier ici ceux de l'année 1889.

Le nombre des traités s'est élevé en 1889 à 238, soit 63 de plus que l'an dernier, ce qui témoigne de la confiance croissante du public dans le traitement. Ils se divisent en 155 hommes et 83 femmes. Au point de vue de l'âge, il y en avait 64 au-dessous de 10 ans, 44 ayant de 11 à 20 ans, et 69 de 20 à 30 ans. L'un des mordus avait 80 ans. Enfin 35 d'entre eux appartenaient à la ville de Charkow, 35 au gouvernement de Charkow; les autres venaient des gouvernements voisins.

Comme dans les années précédentes, c'est en juin et juillet qu'il nous est venu le plus de mordus. Le maximum semble donc tomber un peu plus tard qu'en France, d'après la statistique de M. Perdrix.

Le tableau suivant donne l'idée de la place, du nombre et de la gravité des morsures.

La colonne A comprend les cas dans lesquels la rage de l'animal mordeur a été démontrée par des inoculations aux lapins; la colonne B ceux où la rage a été certifiée à la suite d'un examen vétérinaire.

La colonne C ceux où la rage était seulement probable, d'après les renseignements fournis, et la colonne D ceux où elle est restée douteuse, et où on a pourtant vacciné, pour tranquilliser le malade.

que le 4 octobre. Il avait à la tête 7 grandes morsures de 8 à 10 centimètres dont 3 purulentes. La paupière inférieure de l'œil droit était déchirée, l'œil tiré dans l'orbite et presque privé de vue. Outre cela, 9 morsures aux deux mains : aucune cautérisation. Du 4 au 12 octobre, on fait 20 vaccinations. AL. est atteint de rage le 21 octobre et meurt le 23. Un lapin inoculé avec sa moelle meurt de rage le dix-septième jour.

5. F. ALFERENKOFF, 28 ans, mordu en même temps que le précédent. Six morsures de grandeur moyenne au côté gauche du visage. Traité comme le précédent, et en outre 4 vaccinations nouvelles après un intervalle de 10 jours. Il est atteint de rage le dernier jour de la seconde période de vaccination et meurt le 25 octobre. Un lapin inoculé avec sa moelle meurt aussi le 17^e jour.

6. LOUKERIA PLOTNIKOFF, âgée de 55 ans, mordue le 13 septembre par le même loup que les précédents. 3 morsures de 10 centimètres de longueur sur le côté gauche de la tête et du visage. A reçu du 4 au 12 octobre 20 vaccinations, et du 22 au 28 octobre encore 8 vaccinations ; en tout 28, avec 4 séries de moelles. Prise de rage le 8 novembre et morte le 10.

7. TIKON BRATELSKI, 14 ans, mordu par un loup le 13 octobre. Morsures profondes à la tête ; de moins profondes à la jambe droite. Traité du 18 au 26 octobre. Mort de rage le 6 novembre.

8. W. SAWELIEFF, 27 ans, mordu le 11 juin par un chien. Plusieurs égratignures aux mains. Traité du 13 au 21 juin. Pris de rage le 24 décembre, mort le 25.

En retranchant de ce nombre de 8 morts les cas 4, 5 et 6, où des morsures profondes de loup ont précédé de 20 jours tout traitement, il reste 5 cas de mort malgré les vaccinations, comprenant deux cas de morsures de loup, trois de chien.

Je n'insiste pas sur ces chiffres, qui ne sont du reste pas définitifs, car l'exemple des 2^e et 8^e cas montre que la mort peut ne survenir que six mois et demi après les morsures. Ces cas sont remarquables par la longue persistance à l'état soi-disant latent, dans l'organisme, du virus rabique. Ils nous ont conduits à être plus circonspects, dans les cas de morsures graves, particulièrement dans celles des parties supérieures du corps, et nous avons jugé nécessaire de faire, dans certains cas, des vaccinations réitérées, dans l'espace de 3 mois, avec une seule série de moelles cette fois. Nous n'avons encore appliqué ce mode de traitement qu'à 3 personnes.

Nous avons jugé à propos de séparer des précédents un 9^e cas de décès par rage, survenu deux jours après l'arrivée de la malade à la station, et qui présente un certain intérêt à cause des vaccinations multiples que nous avons faites à cette malade, non pour la sauver,

mais pour étudier l'influence du vaccin sur l'organisme atteint. Voici ce cas.

MATRENA GARBOUNOFF, 50 ans, mordue le 12 août, arrive à la station le 5 septembre avec deux morsures légères cicatrisées à la joue gauche, et six aux doigts des deux mains. On commence de suite les vaccinations, mais déjà le lendemain on voit survenir l'hydrophobie. La température est de 39°, et de 40° pendant la nuit. Les cicatrices du visage rougissent et deviennent légèrement douloureuses. On donne 0^{gr},25 d'antifébrine et 0^{gr},50 de bromure de sodium. Le lendemain, on fait prendre des lavements nutritifs de lait et de bouillon, et toutes les deux heures un lavement d'un verre d'eau. En même temps, on inocule sous la peau de divers points du corps, dans les premières 24 heures, des moelles de 6, 5 et 4 jours par dose de 4^{cc}. Le lendemain on recommence avec des moelles de 4 et 3 jours. La malade se sent un peu mieux, se soulève d'elle-même, marche; ses fonctions se font bien; elle témoigne même d'un peu d'appétit le 8 octobre. Mais le soir l'agitation revient, et la mort survient le 9 octobre. On ne relève dans le cadavre que de l'hyperémie du cerveau et des poumons; faible injection des vaisseaux du nerf temporal et ulnaire du côté mordu. Une émulsion de la moelle et des nerfs du côté mordu et du côté sain est inoculée à 5 lapins, sous la dure-mère. Un premier lapin tombe malade le 16^e jour et périt le 18^e. Le virus qui a causé la mort n'était donc pas du virus de passage. Les 4 autres lapins, ainsi qu'un sixième, inoculé avec l'émulsion du foie et de la rate, restèrent vivants.

Les vaccinations multiples n'avaient donc eu, dans ce cas, aucune influence sur la maladie, mais on voit en même temps que le vaccin inoculé n'est pas nuisible, alors même qu'il est injecté en grandes quantités; ce qui peut encourager à faire d'autres expériences du même genre.

REVUES ET ANALYSES

SUR LA SÉCRÉTION DES DIASTASES DANS L'ORGE

REVUE CRITIQUE

SACHS. *Bot. Zeitung*, 1862, et *Physiologie des plantes*. — A. GRIS, *Annales des sc. Natur.*, Botanique, 1864, t. II. — VAN TIEGHEM. Recherches physiologiques sur la germination. *Id.*, 1873, t. XVII. — BLOCISZEWSKI. *Landwirth. Jahrbüch*, 5, 145, et *Jahresber. d. agrik. Chemie*, 1875. — GREEN. Germination du *Ricinus communis*. *Proceed. of the Roy. Soc.*, 31 janvier 1890. — BÖHM. *Bot. Zeitung*, 1883. — MEYER. *Id.*, 1886. — E. LAURENT. *Id.*, 1887. — DUCLAUX. Sécrétion des diastases. *Microbiologie*, 1883, p. 188. — KJELDAHL. Résumé des travaux du laboratoire de Carlsberg, 1879. — JOHANSEN. Développement et constitution de l'endosperme de l'orge. *Ibid.*, 1884, p. 60. — LINTNER. *Journ. f. prakt. Chemie*, 34. — BROWN et MORRIS. Recherches sur la germination de quelques graminées. *Journal of the chem. Society*, juin 1890. — ARMSTRONG. La terminologie de l'hydrolyse, spécialement dans ses rapports avec les *Ferments*. *Ibid.*, p. 528.

Les questions de diastases ont pris dans ces dernières années une telle importance, qu'elles s'imposent désormais à l'attention des médecins, comme à celle des chimistes. Que sont ces singulières substances? D'où viennent-elles? On peut leur adresser toutes les questions comprises dans la célèbre formule classique

Quis? Quid? Ubi? Quibus auxiliis? Cur? Quomodo? Quando?

et bien d'autres encore, sans trouver jusqu'ici de réponse satisfaisante. Mais la science se fait peu à peu. Les *Annales* publieront bientôt un travail soigneux de M. Fernbach sur le sucrase, ou diastase inverse du sucre candi. L'amylase ou diastase saccharifiant l'amidon est de son côté trop importante en brasserie, pour n'avoir pas donné naissance à une foule de travaux dont je voudrais résumer les plus récents, en m'arrêtant principalement sur celui de MM. Brown et Morris, le dernier venu et de beaucoup le plus intéressant.

Pour bien faire cette étude, il nous faut quelques notions sur la structure anatomique du grain d'orge, notions que je réduirai, pour simplifier, à leurs éléments essentiels. Si on se représente un grain d'orge, placé comme il l'est dans l'épi, avec une face ventrale tournée vers l'axe et une face dorsale vers l'extérieur, on trouvera, au bas du grain, et appliqué contre l'épiderme de la face dorsale, l'embryon avec sa radicelle tournée vers le bas et enveloppée dans la coléorhize, avec sa plumule tournée vers le haut et composée de toutes petites folioles rangées autour d'un axe primaire et d'axes secondaires. Entre les deux se trouve la tige, très rudimentaire, mais dans laquelle existe un commencement de vascularisation. En dehors de l'embryon, il n'y a guère dans le grain autre chose que l'endosperme, qui est surtout formé de cellules polygonales renfermant l'amidon, c'est-à-dire la réserve nutritive destinée à l'embryon pendant les premiers jours de son existence.

Ce sont les rapports entre cet embryon et ces réserves qui sont intéressants à saisir. Vis-à-vis de cet endosperme qui le domine et l'écrase, l'embryon est dans la position d'un soldat qui se défend, légèrement incliné vers la face dorsale du grain, et tournant vers le haut, c'est-à-dire vers l'endosperme, une sorte de bouclier convexe, le *scutellum*, qui est caractéristique des semences de graminées. Pour plus de ressemblance, ce bouclier est couvert, à la façon des boucliers antiques, d'une peau, ou plutôt d'un épiderme fortement attaché au bouclier, mais n'ayant qu'une adhérence faible avec l'endosperme qu'il touche. Cet épiderme, formant ainsi la limite entre la jeune plante et l'endosperme nutritif, et destiné à être traversé par les réserves lorsqu'elles iront nourrir l'embryon, devait attirer l'attention des physiologistes, et se présenter à eux comme un organe d'absorption. Il a en effet ce caractère, mais MM. Brown et Morris lui en ont trouvé un encore plus important, qui nous oblige à entrer dans quelques détails sur sa constitution.

Dans l'orge, cet épithélium du *scutellum*, couvrant toute la surface en contact avec l'endosperme, est formé de cellules columnaires, en palissade, implantées normalement sur le *scutellum*, et ayant des parois très minces, nullement cuticularisées. Leur contenu avant le commencement de la germination est finement granuleux, et le nucléus en est très visible. Dès que le grain est exposé à la chaleur et à l'humidité, les granulations protoplasmiques augmentent en nombre et deviennent plus grosses, le contenu de la cellule devient obscur. Le nucléus cesse d'être visible, et cela dure ainsi tant que les réserves de l'endosperme n'ont pas disparu. Quand ce moment arrive, les cellules reprennent leur aspect transparent. Or, ce sont là les modifications d'aspect et de structure que subissent les cellules des organes de sécrétion chez les

végétaux et les animaux. L'épithélium scutellaire serait-il donc un organe de sécrétion?

On est confirmé dans cette pensée, en remarquant que pendant la germination, les cellules épithéliales columnaires s'allongent un peu, perdent leurs adhésions latérales les uns et les autres, s'élargissent un peu à leur extrémité, et forment ainsi comme un velours de villosités s'enfonçant dans l'endosperme.

Les changements visibles que subit celui-ci ne sont pas moins probants. Après 24 ou 36 heures de germination, lorsque la racine primaire a fait saillie au travers de la coléorhize, on aperçoit un commencement de dissolution dans une couche de cellules vides et écrasées les unes contre les autres, qui fait partie de l'endosperme et est immédiatement en contact avec le scutellum. Ces cellules ont contenu l'amidon qui a servi aux premiers développements de l'embryon, dans le sac embryonnaire. Cet amidon, liquéfié et absorbé sur place, a quitté la cellule, dont les parois se sont affaïssées et comprimées sous la pression de l'embryon qui grossissait. Puis est venue la période de repos pour la graine, et tout est resté en l'état. Quand la germination commence, nous voyons que ces parois cellulaires disparaissent les premières, comme si elles formaient obstacle entre l'embryon, abrité derrière son bouclier, et les réserves nutritives; et comme, au moment où elles disparaissent, on observe une apparition transitoire d'amidon dans le tissu du bouclier, il n'est pas douteux que leur cellulose ne soit le premier aliment de réserve mis à contribution par la jeune plante en voie de croissance.

Cette action dissolvante sur la cellulose ne s'arrête pas là. Elle atteint à leur tour les cellules gorgées d'amidon de l'endosperme. Les parois cellulaires gonflent, leur stratification devient de plus en plus apparente, puis elles se corrodent et finissent par se résoudre en petits fragments qui disparaissent à leur tour, de sorte qu'on ne trouve plus de ligne de séparation visible entre les contenus de cellules contiguës. J'ai trouvé que dans la panse des ruminants, les grains entiers qui y arrivent subissent une liquéfaction analogue.

A mesure que se poursuit cette dissolution des parois cellulaires, le grain perd en effet de sa solidité, se laisse écraser entre les doigts, prend ce degré de mollesse que le malteur s'attache à pousser au plus haut degré possible, pendant la courte période de germination qui constitue le maltage. Le procès est corrélatif, comme on le voit, de la dissolution des parois cellulaires, et non pas, comme on le croit, de la destruction commençante de l'amidon.

Son mode de progression est en outre celui qu'on pouvait prévoir, en admettant que c'est dans la couche épithéliale du scutellum que réside la cause active. Comme ce scutellum est incliné, la dissolution

progresses moins vers le sommet du grain du côté de la face ventrale que du côté de la face dorsale. Comme c'est aussi du côté de la face dorsale que grandit la plumule, on avait cru pouvoir attribuer à la plumule ce mode de progression. Mais il reste le même chez les graminées dont la plumule pousse en dehors des téguments de la graine, et même dans les grains d'orge chez lesquels on a produit artificiellement ce développement externe de la plumule.

Il faut donc renoncer à faire intervenir la plumule dans l'explication du phénomène, qui est dû sans doute à ce que les cellules du parenchyme de la face dorsale sont les dernières formées dans le grain, par conséquent les plus jeunes et les plus facilement attaquables par l'agent spécial de la dissolution de la cellulose. Ces différences de résistance se retrouvent dans les diverses orges, dont les unes peuvent être maltées très vite, et d'autres très difficilement. Cela dépend de la race, du sol et du climat; mais d'une manière générale les orges les plus recherchées par les malteurs sont celles dont les parois cellulaires se dissolvent le plus facilement.

Cette dissolution avance, nous l'avons dit, obliquement le long du grain, et finit par l'envahir tout entier. Parallèlement à elle, mais toujours un peu en arrière, marche la dissolution de l'amidon, qui commence aussi dans le voisinage immédiat du scutellum, comme la dissolution de la cellulose, mais qui est moins précoce qu'elle, car on n'en observe guère les premiers signes que lorsque la racine primaire de l'embryon a pris une longueur de 2 millimètres, et la plumule une longueur de 4^{mm},5.

Cet amidon est atteint d'une façon singulière. Il se creuse de trous qui, en se multipliant et en grandissant, lui donnent les formes les plus irrégulières; puis surviennent des fentes radiales qui favorisent la dislocation des couches superposées formant le granule. Ces couches se dissolvent inégalement, et le globule se réduit à une sorte de squelette dont les débris disparaissent peu à peu. On reconnaît là les formes ordinaires de la dissolution germinative de l'amidon dans les endospermes; c'est aussi, comme je l'ai observé, la forme de la dissolution de l'amidon cru par le mycélium de *Aspergillus niger*. MM. Brown et Morris ont une tendance à y voir la forme générale de la dislocation de l'amidon en dehors de la cellule vivante, et par conséquent à considérer comme mortes les cellules de l'endosperme qui se laissent si facilement liquéfier. Il y a là un point qui mérite qu'on s'y arrête.

Au moment où, dans l'orge lui-même, l'embryon se forme dans le sac embryonnaire, il le fait aux dépens de l'endosperme formé avant lui, et dont il utilise l'amidon pour la construction de ses premiers tissus. Cet amidon est formé de granules en tout semblables à ceux qui

restent au moment de la germination, et on pourrait croire que leur dissolution se fait aussi par corrosion et dislocation irrégulière. Il n'en est rien : ils se dissolvent régulièrement par l'extérieur en diminuant graduellement de volumes et en conservant jusqu'à la fin leur forme, bombée et leur transparence. De plus les cellules qui les contiennent ne sont pas détruites comme pendant la germination, et nous les avons retrouvées en place, comprimées, mais intactes, au voisinage du scutellum, parmi les premiers matériaux utilisés par l'embryon qui pousse.

Dans ce scutellum, dans cet embryon lui-même, il se fait quelquefois des réserves temporaires d'amidon, qui, lorsqu'il disparaît, subit encore une dissolution graduelle et régulière. Je peux ajouter qu'il en est souvent de même dans les feuilles cotylédonaire. Dans mes essais de germination à l'abri des germes, il m'est souvent arrivé de voir dans des cotylédons hypogés, restés plusieurs semaines dans un sol purgé de microbes, des cellules restées pleines ou presque pleines d'amidon au milieu d'autres qui étaient vides, mais la dissolution était des plus régulières dans tous les grains en voie de disparition. C'est évidemment une dissolution qui s'exerce sur place, en vertu d'une sécrétion propre à la cellule, sécrétion qui ne transmigre pas facilement à l'extérieur, comme le prouve ce fait curieux d'une cellule restant gorgée d'amidon au milieu d'autres qui n'en contiennent plus.

Tel est aussi, comme je l'ai vu, le mode de disparition de l'amidon sous l'influence de certains bacilles du sol qui pénètrent dans la cellule sans en détruire la paroi, et qui la vident de son amidon en le dissolvant régulièrement par sa périphérie. Rien n'est plus éloigné, on le voit, du mode de destruction de l'amidon dans les cellules liquéfiées de l'orge en germination.

Comme, dans cette graine, et celle des autres graminées, on peut avec quelques précautions isoler l'embryon de son endosperme sans aucune rupture de tissus, attendu qu'il n'y a pas de relations organiques entre l'endosperme et lui, on conclura de tous ces faits, comme Sachs l'avait déjà fait en vertu de notions moins précises, que la relation de l'embryon des graminées vis-à-vis de l'endosperme est exactement celle d'un parasite vis-à-vis de son hôte. Le scutellum est l'analogue des *haustoria* des parasites phanérogames. La seule différence est que le scutellum n'a pas de connexions organiques avec l'endosperme, est simplement en contact étroit avec lui, tandis que les *haustoria* des parasites sont quelquefois si intimement confondus avec les tissus de la plante-hôte qu'il est souvent difficile de trouver leur limite commune.

S'il en est ainsi, l'embryon a une vie indépendante, et MM. Brown et Morris ont greffé sur cette idée une foule de développements intéressants.

sants. Déjà A. Gris et Van Tieghem avaient réussi à faire germer des embryons excisés sur des éponges humides, et Van Tieghem avait même pu activer et prolonger ce développement en remplaçant l'albumen du *Mirabilis jalapa* par un albumen artificiel, obtenu en broyant un albumen naturel, et en le roulant en petites boules qu'on appliquait étroitement contre l'embryon. Blociszewski, en recommençant ces curieuses expériences, avait comme M. Van Tieghem tenté des substitutions de nourriture. Il avait vu l'embryon du seigle pouvoir utiliser des albumens artificiels de farine de seigle, d'amidon, de sucre de raisin, mais non d'asparagine. L'embryon du pois pouvait absorber l'amidon, le sucre, l'asparagine à très faibles doses, mais non utiliser un albumen artificiel obtenu par macération des cotylédons du pois. Toutes ces expériences sont délicates, quand on veut éviter les erreurs d'interprétation auxquelles expose l'intervention presque inévitable des microbes, mais dans leur ensemble elles sont très suffisamment probantes.

MM. Brown et Morris les reproduisent avec l'embryon de l'orge. En écartant vers la base les glumelles du grain ramolli dans l'eau, on aperçoit les contours de l'embryon sous la mince enveloppe du péri-carpe et de la testa. En passant la pointe fine d'un petit scalpel tout autour des parois du scutellum, on détache l'embryon, qu'on porte sur une autre graine, traitée de même; on rabat sur l'embryon greffé les glumelles, qu'on maintient si c'est nécessaire avec un fil fin d'argent. L'embryon ainsi traité se comporte absolument comme s'il était resté en contact avec son endosperme, dissout et consomme l'amidon de celui qu'on lui a donné comme nourrice.

On peut transporter l'embryon d'orge sur un endosperme de froment. Il pousse, mais son développement est un peu gêné, à cause des différences de constitution des deux grains et des difficultés d'ajustement entre l'embryon et l'endosperme. On peut aussi, comme l'ont fait MM. Brown et Morris, soumettre l'endosperme à l'action de la chaleur sèche de 90° à 100°, ou à un séjour dans l'alcool ou dans l'eau chloroformée; il n'en reste pas moins capable de nourrir l'embryon qu'on greffe sur lui. On peut donc admettre que, dans les conditions ordinaires, cet endosperme des graminées reste passif pendant la germination: c'est un simple réservoir de matière alimentaire que l'embryon utilise en dissolvant les sacs qui la contiennent, et en s'emparant du contenu au fur et à mesure de ses besoins.

S'il en est ainsi, et si l'embryon jouit de toute cette indépendance, on peut lui demander à lui-même de nous renseigner sur ses préférences. Séparé de son endosperme et cultivé sur de l'eau, il pousse sa plumule, sa racine, et des rudiments de radicelles; l'amidon apparaît de place en place dans ses tissus, probablement aux dépens des cellules

d'aleurone qu'on trouve dans le scutellum. Toutefois, cette culture est épuisante, et l'embryon, tout en grandissant, y perd jusqu'à 40 0/0 de son poids sec. Mais si on remplace l'eau par des dissolutions nutritives, ou encore si on rapporte sur des solutions sucrées convenables l'embryon épuisé par cinq ou six jours de culture sur l'eau, l'amidon reparaît abondant dans le scutellum, en commençant par les couches que recouvre l'épithélium, et de là passe dans les organes axiaux. Bref, l'embryon se comporte comme s'il était encore attaché à son endosperme, et s'il ne grandit pas autant et ne continue pas son évolution, c'est qu'il n'a pas à sa disposition d'autre azote que celui qu'il a apporté; mais son augmentation de poids donne une idée de la valeur nutritive de l'aliment qu'on lui a présenté.

Voici à ce sujet le résultat d'une expérience comparative de MM. Brown et Morris. Sur des solutions de sucres renfermant 3,5 0/0 de matière nutritive, on a semé 50 embryons isolés comme nous l'avons dit plus haut, et qui sont restés 7 jours en germination; au bout de ce temps on les a desséchés à 100° et pesés. Voici les poids trouvés pour ce groupe de 50 embryons, qui sera pris pour unité dans tous les résultats qui vont suivre :

Avant germination.	89 mgr.
En culture sur l'eau	52
Greffés sur des endospermes	436
Cultivés sur du sucre de cannes	195
» dextrose	164
» lévulose.	162
» maltose.	155
» sucre interverti	132
» sucre de lait	90
» raffinose	91
» mannite	89

On voit que le sucre de cannes tient la tête pour ses qualités nutritives, et précède de beaucoup le maltose qui est pourtant le sucre naturel du grain d'orge en germination. Le sucre interverti est moins favorable. Quant au sucre de lait, au raffinose et à la mannite, c'est à peine si l'embryon y touche, et il ne se donne pas d'amidon. Böhm, Meyer et Laurent avaient déjà étudié cette influence des sucres pour faire reparaître l'amidon dans les tissus qui en avaient été épuisés, et Laurent avait vu que les racines étiolées des pommes de terre, privées d'amidon par un long séjour dans l'eau à l'obscurité, ne se remplissaient à nouveau d'amidon que lorsqu'on mettait à leur disposition une des sept substances suivantes : glycérine, dextrose, lévulose, galactose, saccharose, lactose et maltose. Ce sont en grande partie les mêmes que pour l'orge. La glycérine, qui n'est pas portée dans

le tableau ci-dessus, devait s'y trouver très rapprochée du maltose.

Une fois lancés dans cette bonne voie, nous pouvons y aller plus loin à la suite de MM. Brown et Morris. Étudions l'action de l'embryon sur l'amidon. Ce qui est le plus commode pour cela, est de mettre en suspension de l'amidon finement divisé dans une gélatine nutritive sur laquelle on place les embryons, le scutellum en contact avec la gélatine. En faisant à divers intervalles des coupes fines dans cette gélatine, on peut y suivre au microscope le travail de désagrégation de l'amidon qu'on y a introduit.

Ce travail commence par la couche de contact de la gélatine et du scutellum, et se poursuit en irradiant tout autour. Il se fait comme dans le grain d'orge, par une dislocation irrégulière du globule d'amidon. L'amidon de l'orge est celui qui est le plus rapidement transformé, mais ceux du froment, du riz, du maïs sont aussi promptement attaqués; ceux de la pomme de terre et du haricot résistent à l'action de l'embryon d'orge.

Voici qui est encore plus curieux. Si on sépare délicatement l'épiderme du scutellum avant de faire l'expérience, il n'y a plus aucun effet produit. C'est donc la couche épithéliale du scutellum qui est le siège de la sécrétion de la diastase : elle conserve ce pouvoir quelque temps après avoir été détachée, et, appliquée seule à la surface d'une gélatine à l'amidon, elle commence l'érosion des granules placés au dessous d'elle.

On peut se faire une idée approximative des quantités de diastase ainsi sécrétée par le procédé suivant. Kjeldahl a montré que lorsqu'on faisait agir sur l'amidon soluble des dissolutions diverses de diastase, les quantités de sucre produites dans un même temps étaient proportionnelles aux teneurs en diastase, à la condition d'arrêter l'expérience presque à ses débuts, et lorsque la quantité de sucre produit ne dépassait pas le quart du total du sucre possible dans les conditions de l'expérience. La quantité de sucre produit peut du reste être évaluée, soit comme l'a proposé Lintner, par le volume de liqueur de Fehling réduite, soit, comme le font MM. Brown et Morris, par la quantité d'oxyde de cuivre précipité. La chose a peu d'importance : aucun des nombres ainsi trouvés n'a de valeur absolue ; mais nous pouvons nous contenter de leurs valeurs relatives. Les nombres que nous citerons seront rapportés uniformément à 50 embryons, broyés, digérés 24 heures dans l'eau, et mis ensuite pendant une heure à 30°, en contact avec une assez grande quantité de solution d'amidon pour qu'on puisse compter sur la loi de proportionnalité que nous avons indiquée plus haut. Ils représentent le nombre de milligrammes d'oxyde de cuivre précipité par le sucre produit par la diastase, mais ce sont surtout leurs rapports qui sont intéressants à consulter.

Par exemple, 50 embryons placés sur la gélatine avaient conservé dans leurs tissus, au bout de 3 jours, 70 de diastase. Ils en avaient laissé se diffuser 98 dans la masse de gélatine. Le total est de 118. Sur de la gélatine additionnée de 0,0065 0/0 d'acide lactique, les chiffres correspondants sont 90 et 54. D'où un total de 145. La sécrétion de la diastase dans l'épithélium est donc augmentée par la présence d'une petite quantité d'acide, et ce fait a de l'importance quand on songe que la germination est d'ordinaire accompagnée de la formation d'un acide qui, d'après Frankhauser, est précisément de l'acide lactique.

Prenons un autre exemple pour montrer avec quelle netteté les expériences se font, et quels curieux résultats on en tire. On pourrait croire que la sécrétion de la diastase est stimulée par la présence de l'amidon. A vrai dire, quoi qu'en pensent MM. Brown et Morris, il serait un peu surprenant que la couche épithéliale fût sensible à la présence d'un grain d'amidon insoluble à une certaine distance d'elle. Pour agir sur la sécrétion d'une cellule, il faut d'abord agir sur sa nutrition. Mais consultons l'expérience. Elle nous donne 163 pour le chiffre de la diastase produite en 4 jours sur de la gélatine ordinaire, et 159 sur de la gélatine additionnée d'amidon. Il y a donc plutôt une diminution qu'une augmentation.

Mais ajoutons à cette gélatine du sucre de cannes; nous trouvons alors que l'amidon n'est plus attaqué, et que la couche épithéliale ne sécrète plus de diastase. Il y a plus, cette action inhibitoire est spéciale aux sucres que nous avons vus plus haut être assimilables par l'embryon, tandis que les solutions de substances que nous savons être inassimilables, comme le lactose et la mannite, ne changent rien à l'action du scutellum sur l'amidon.

Cette curieuse influence se manifeste aussi sur des embryons restés adhérents à leurs endospermes. Des grains d'orge, humectés pendant 24 heures, ont été coupés à leur partie supérieure, pour favoriser la pénétration, et plantés alors avec l'embryon en bas, dans de la soie de verre saturée d'eau distillée pour un premier lot, d'une solution à 5 0/0 de sucre de cannes pour un second lot. Les embryons ont bien poussé partout, et au bout de 4 jours, on a vu que l'endosperme était tout disloqué, et que l'amidon commençait à être atteint dans les grains germés dans l'eau, pendant que, chez les autres, l'endosperme avait presque entièrement conservé sa consistance normale.

Cette suppression d'une sécrétion par un hydrate de carbone assimilable rentre dans les faits que j'ai signalés d'une dépendance entre la nutrition et la sécrétion des diastases. MM. Brown et Morris insistent sur sa haute signification physiologique. « Il est évident, disent-ils, que le pouvoir sécrétoire, est d'une façon ou de l'autre, adapté aux besoins de la jeune plante, de façon à n'entrer en action que lorsque se fait rare la pro-

vision de composés hydrocarbonés servant à la construction des tissus. Quand ils commencent à manquer, la réserve de matériaux solides est entamée par la diastase, dont la production est sans doute contenue par les produits de sa propre réaction, de façon à prévenir toute folle dépense de la sécrétion. La sécrétion de diastase active par l'épithélium peut donc être regardée, jusqu'à un certain point, comme un phénomène d'inanition. »

On pourrait ajouter que ce mécanisme est curieux à rencontrer dans une plante comme l'orge, dont l'endosperme doit être consommé et digéré à distance. Dans d'autres monocotylédonées en effet, l'embryon grandit à l'intérieur de l'endosperme, qu'il remplace à mesure qu'il le vide et le détruit. L'épithélium qui le suit dans son développement rencontre donc constamment de nouvelles provisions alimentaires qu'il peut digérer au contact. Ces graines ne laissent pas se diffuser leur diastase, et semblent n'en produire qu'une quantité correspondante à leurs besoins. La limitation de la sécrétion semble provenir d'une autre cause que dans l'orge, mais peut-être, au fond, cette cause est-elle la même partout.

Nous n'avons pas fini. Nous n'avons examiné jusqu'ici que la diastase qui va dissoudre à distance l'amidon des cellules de l'endosperme. Mais ces cellules elles-mêmes, sous quelle influence leurs parois se dissolvent-elles ? MM. Brown et Morris montrent que c'est à l'aide d'une diastase au sujet de laquelle nous pourrions répéter tout ce que nous venons de dire au sujet de la diastase dissolvante de l'amidon, car elle se comporte de même et a la même origine.

Un extrait de malt d'orge, fait à froid, dissout la cellulose de tranches minces de grain d'orge qu'on y laisse séjourner quelques heures, et la cellulose s'y détruit comme nous avons vu plus haut qu'elle le fait dans le grain d'orge en germination. Le même extrait dissout la cellulose de tous les endospermes de graminées, celle d'une tranche de pomme de terre, de carotte, de navet, d'artichaut, mais il respecte la cellulose des graines de dattier, d'asperge, de café, d'ail, de balsamine, de primevère, et celle de la pomme et de la betterave.

Ce même extrait perd cette propriété par le chauffage, et on peut en séparer la substance active au moyen de l'alcool. Tout fait donc présumer l'existence d'une diastase, évidemment distincte de la diastase qui agit sur l'amidon. MM. Brown et Morris l'appellent *diastase cytohydrolitique*. Pour abrégé et nous conformer à la terminologie employée dans ces *Annales*, nous l'appellerons *cytase* ¹.

1. Dans un court mémoire qui suit celui de MM. Brown et Morris, M. Armstrong s'élève contre la confusion que peut produire le mot de *ferment* appliqué,

Comme l'amylase, cette cytase est sécrétée par l'épithélium du scutellum, et on le démontre comme plus haut. Un embryon avec son scutellum sans épithélium, placé sur une tranche de pomme de terre, la laisse intacte; avec son épithélium, il en dissout la cellulose et peut s'y mouler en y faisant un trou. Les deux diastases sont sécrétées simultanément. On ne peut les séparer par aucun moyen, mais on constate pourtant qu'elles sont différentes en examinant comment elles se comportent sous l'action de la chaleur. La cytase perd un peu de son action après avoir été chauffée à 50°, et est détruite au bout d'une demi-heure à 60°. L'amylase ne perd au contraire presque rien de sa puissance dissolvante sur l'amidon cru après avoir été chauffée à 70°; son action sur l'empois d'amidon n'est que légèrement modifiée à 60°.

Ces actions dissolvantes sur la cellulose, ou plutôt sur les diverses celluloses, ont été fréquemment observées, mais doivent être étudiées avec beaucoup de prudence, parce qu'il y a cellulose et cellulose comme il y a amidon et amidon. Si même on y regarde de près, on trouve qu'aucun caractère fondamental ne permet de séparer l'amidon de la cellulose. L'action de l'iode, qui semble la plus caractéristique, est plutôt une propriété de structure qu'une propriété de fonction. Il y a des plantes dont les graines sont formées de cellules à parois amyloïdes se colorant en bleu par l'iode, la *Balsamea impatiens*, le *Tropaeolum majus*, la *Primula Webbii*. D'un autre côté, vis-à-vis d'un même microbe, il y a des amidons plus résistants que des celluloses, et des celluloses plus résistantes que certains amidons. Le même *amylobacter* peut dissoudre les cellules de la pomme de terre en respectant son amidon, et l'amidon du blé, en respectant sa cellulose. Si j'insiste ainsi, c'est que je ne saurais accepter toutes les conclusions auxquelles arrivent MM. Brown et Morris, sur ce chapitre de leur très intéressant travail.

indistinctement, aux ferments organisés ou microbes et aux ferments non organisés, pour lesquels il propose le nom nouveau d'*hydrolustes*. Ce mot me semble à la fois trop large et trop étroit, trop large en ce sens qu'il ne permet pas de séparer des actions de diastase ordinaires l'action des acides ou de la chaleur, qui aboutit aussi à des dédoublements avec addition d'eau, mais qui procède évidemment d'un tout autre mécanisme; trop étroit en ce sens qu'il place à côté de l'intervention du sucre candi, qui est un dédoublement avec hydratation ou hydrolisation, la coagulation de la caséine par la présure, sur laquelle on ne sait rien. Je sais bien que M. Armstrong évite ce cas embarrassant en proposant, pour toutes les actions diastasiques qui aboutissent à un coagulum, le nom de *thrombogènes*, mais comme la coagulation du lait est par excellence une action de diastase, il n'y a vraiment aucune raison pour lui faire une place et lui donner un nom à part. Nous avons pris le parti, dans ces *Annales*, d'employer comme terme générique le nom de *diastase* au lieu de *ferments inorganisés ou solubles*, que nous n'avons jamais employé. Le mot ferment se rapporte toujours à un être vivant. Quant aux diverses diastases, on les désigne en faisant, autant que cela est possible, précéder la terminaison *ase* de la mention abrégée du caractère principal de la diastase, ainsi amylase, sucrase, caséase, etc.

On a cru pendant longtemps que l'orge ne renfermait pas de diastase avant la germination. Kjeldahl a montré le premier qu'il y en avait une, qu'on avait méconnue parce qu'on avait toujours opéré avec de l'empois d'amidon qu'elle est incapable de liquéfier, mais qui a la propriété de saccharifier l'amidon soluble. Cette diastase, d'après MM. Lintner et Eckhardt, se distingue de la diastase du malt en ce qu'elle n'a pas son maximum d'action entre les mêmes limites de température. C'est à elle que sont dus ces phénomènes de dissolution des grains d'amidon déposés temporairement dans l'embryon et qui disparaissent non par érosion, mais par dissolution régulière. Enfin cette diastase de l'orge se différencie encore de celle du malt en ce qu'elle est incapable d'attaquer la cellulose du grain d'orge.

Cette diastase de l'orge est la seule qu'on trouve dans le grain au moment du développement de l'embryon ; c'est à son aide que l'embryon utilise l'amidon des jeunes cellules de l'endosperme qu'il envahit en grandissant. Il les vide sans les détruire, les refoule devant lui en les comprimant, et c'est ce rempart de cellules vides et usées que nous avons vu attaqué par la diastase produite au moment de la germination.

Cette diastase ne peut se former qu'à la condition que le grain ait été amené à ce degré de maturité qui s'accompagne d'une dessiccation partielle. Les malteurs avaient depuis longtemps remarqué la très défectueuse germination des orges qui n'avaient pas été suffisamment desséchées naturellement ou artificiellement. L'explication de ce fait est sans doute dans ce qui précède : l'épithélium scutellaire de l'orge mûr, mais non sec, est incapable de sécréter cette seconde diastase, la seule à peu près qui intéresse le brasseur.

MM. Brown et Morris proposent là-dessus de donner deux noms différents à ces diastases, d'appeler l'une *diastase de translocation*, la seconde *diastase de sécrétion*. Avec la cytase, cela ferait trois diastases dans l'orge. Si leur présence était démontrée, il faudrait bien accepter cette complication. Mais dans l'incertitude où nous sommes sur les diastases, sur la dépendance entre leur action spécifique et la réaction du milieu dans lequel elles agissent, il est imprudent de faire trop de subdivisions. Dans le travail auquel j'ai fait allusion en commençant, M. Fernbach montrera que les conditions d'acidité qui exaltent l'action de la sucrase d'une levure dépriment l'action de la sucrase d'une autre levure. Ce n'est pas une raison pour doter chaque espèce de levure d'une sucrase spéciale. Il pourrait se faire que dans l'orge ce soit la variation dans la constitution ou la réaction du milieu qui donne à la diastase de translocation la propriété de la diastase de sécrétion, et même peut-être, qui sait ? celle de la cytase, si la barrière entre l'amidon et la cellulose est aussi étroite que nous l'avons dit plus haut.

Quoi qu'il en soit, on peut, en prenant pour moyen de mesure l'action sur l'amidon soluble, se faire une idée de la distribution du mélange des deux diastases dans l'orge germé. Voici, évalués comme plus haut, les chiffres trouvés par MM. Brown et Morris après un maltage de sept jours. Dans l'endosperme on a distingué entre la teneur des parties les plus voisines de l'embryon (*a*) et les parties les plus éloignées (*b*).

Diastase dans 50 endospermes, partie <i>a</i> . . .	9 ^{re} ,797
» » » <i>b</i> . . .	3 ,531
» les radicules de 50 grains. .	0 ,068
» les plumules » . . .	0 ,045
» les scutella » . . .	0 ,547
Total . . .	<u>13 ,988</u>

On voit que la diastase est surtout accumulée dans les portions en regard et en contact du scutellum et de l'endosperme. On voit aussi, par la comparaison des nombres de ce tableau avec les nombres plus petits trouvés pour les embryons excisés, quel intérêt il y a, pour l'embryon, à rester adhérent à son endosperme. Il ne sécrète qu'à la condition de vivre, et il modère ou suspend sa vie quand ses matériaux de réserve commencent à s'épuiser. Cultivé sur de l'eau, il n'y trouve rien. Sur du sucre ou de l'amidon, il en est réduit aux éléments azotés qu'il avait apportés. Quand il est en relation avec son endosperme, il s'en procure constamment de nouveaux. L'amidon qu'il dissout lui sert à édifier de nouvelles cellules. MM. Brown et Morris promettent de montrer dans autre travail qu'un flot continu de matières azotées lui arrive de l'endosperme au travers de l'épithélium columnaire. Nous attendrons ce travail pour revenir sur ce point de physiologie, examiner les transformations que subissent les sucres dans les tissus de l'embryon, et discuter aussi une théorie d'Haberlandt qui place la source des diastases dans une couche dont nous n'avons pas parlé, la couche d'aleurone de l'endosperme des graminées. En poussant plus loin l'étude sur ce sujet, on le compliquerait inutilement; il est prudent de laisser au lecteur le temps de s'assimiler les résultats qui précèdent, et qui, serrés les uns contre les autres dans le substantiel mémoire de MM. Brown et Morris, en font un travail des plus intéressants, mais des plus difficiles à résumer.

Dx.

P. CANALIS et B. MORPURGO. Influence du jeûne sur la disposition aux maladies infectieuses, *Rome*, 1890.

L'invasion violente des microbes sur le terrain de la pathologie n'a pas été sans inquiéter à l'origine les cliniciens et les épidémiologistes.

Eh quoi ! disaient-ils, allons-nous être obligés de renoncer à toutes ces notions si chères sur l'influence des climats, des saisons, des milieux, des privations, de la misère physiologique ? Le microbe va-t-il effacer et remplacer tout cela ? Tranquillisez-vous, leur répondait-on, vous verrez tout cela reparaitre. Il y aura le microbe en plus, mais il vivifiera et fécondera les notions anciennes au lieu de les détruire, et comme preuve, on citait le beau travail de Delafond et Bourguignon sur cette gale des troupeaux, dont le virus ne se développe pas lorsqu'il est transporté sur des animaux bien portants, tandis qu'il envahit très vite des animaux placés dans de mauvaises conditions de nourriture ou de stabulation.

C'est ainsi, pour ne parler que du charbon et des diverses influences qui peuvent activer ou entraver son développement, que M. Pasteur nous a montré celle du refroidissement, Rodet ¹ celle de la saignée, Feser ² celle du mode de nutrition, Bardach ³ celle de l'extirpation de la rate. A propos du charbon symptomatique, Charrin et Roger ⁴ ont aussi mis en évidence l'influence de la fatigue. MM. Canalis et Morpurgo reprennent aujourd'hui ce sujet en étudiant l'influence de l'inanition, que Gibier ⁵ avait effleurée dans ses expériences sur le développement du charbon chez les grenouilles.

MM. Canalis et Morpurgo, qui ont aussi pris le charbon comme terrain d'études, ont judicieusement choisi, comme animal d'expérience, le pigeon, qui n'est ni très réfractaire ni très sensible à cette maladie. Avec la race qu'ils avaient entre les mains, sur 12 animaux inoculés du charbon, il en est mort seulement 2. L'inoculation se faisait en introduisant, sous la peau stérilisée de la face interne d'une aile, une anse de platine chargée d'une culture de charbon sur gélose, où les spores abondaient, et qui était virulente pour les lapins et les cobayes.

Le résultat de l'inoculation est tout différent si on soumet le pigeon à l'inanition quelques jours avant le moment de l'inoculation, ou même seulement à partir de ce moment. Sur 16 pigeons ainsi inoculés à des périodes variables, il en est mort 15, avec des bacilles charbonneux dans tous les organes (muscles, cœur, foie, rate). Le 16^e était un pigeon inoculé après 7 jours de jeûne, qui est mort le lendemain de l'inoculation, sans doute de faim, mais chez lequel on a observé un développement abondant de bacilles dans la région inoculée.

1. *Thèse de Paris* 1872.

2. *Jahresb. v. Virchow u. Hirsch*, 1879.

3. *Ces Annales*, 1889.

4. *Société de Biologie*, 49 janvier 1890.

5. *Comptes rendus Acad. d. Sciences*, t. 94, p. 1605.

Ces mêmes animaux, qui meurent ainsi tous ou presque tous du charbon, résistent au contraire à l'inoculation, même lorsqu'elle succède à une période d'inanition, lorsqu'on rend sa nourriture à l'animal, aussitôt qu'il a été inoculé. Il faut seulement que l'atteinte portée à sa santé n'ait pas été trop profonde. Sur 10 animaux qui n'avaient pas à leur passif plus de 6 jours d'inanition au moment de l'inoculation, aucun n'est mort du charbon. Sur 4 animaux inoculés après 9 jours d'inanition, il en est mort 2 de cette maladie.

Avant d'attribuer uniquement à l'influence du jeûne ces curieux effets, MM. Canalis et Morpurgo se sont demandé s'il ne fallait pas faire entrer en ligne de compte l'abaissement de température que produit l'inanition. Pour le savoir, ils ont soumis des pigeons inoculés, en les maintenant dans un bain d'eau, à un refroidissement à peu près égal à celui qui résultait de l'inanition. Neuf animaux ainsi traités sont morts, malgré le gavage auquel ils étaient soumis, mais aucun n'est mort du charbon; on ne trouvait pas de bacilles dans leurs organes, et la réaction, au point d'inoculation, était aussi légère que chez les pigeons réfractaires. MM. Canalis et Morpurgo se croient par là autorisés à admettre que le refroidissement n'est pour rien dans la perte de l'état réfractaire, et que c'est l'inanition qui a seule un rôle. Peut-être serait-il nécessaire de consolider cette conclusion en étudiant d'un peu plus près le mécanisme de la mort. Une influence physiologique n'est pas comme une brique dans un mur, qu'on peut briser ou enlever sans ébranler le reste. Il serait bien étonnant qu'un refroidissement qui peut à lui seul conduire un animal à la mort soit sans influence sur sa résistance au charbon; mais peut-être que cette influence n'est pas directe et se traduit, par exemple, par l'intermédiaire des globules blancs, comme dans le travail de M. Wagner, inséré dans ce numéro.

Cette restriction sur les *causes* n'en implique naturellement aucune sur les *faits*, qui semblent bien démontrés. MM. Canalis et Morpurgo ont même eu l'idée ingénieuse d'utiliser cette sensibilité au charbon, obtenue par l'inanition, pour savoir combien de temps durait la virulence des germes introduits sous la peau. Il suffisait pour cela de supprimer la nourriture, quelques jours après l'inoculation, et de voir ce que devenaient les animaux restés sains jusque-là. Si on les voyait mourir du charbon, c'est qu'ils avaient conservé, depuis le jour de l'inoculation, des bacilles virulents dans la région inoculée. En opérant ainsi, on a vu que 12 pigeons, soumis à l'inanition le 5^e jour après le moment de l'inoculation, sont tous morts du charbon avec de nombreux bacilles dans le sang. Sur 2 inanitiés le 7^e jour, un est mort du charbon et l'autre est resté douteux. Sur 5 inanitiés le 8^e jour, il y en a eu 2 charbonneux. Au delà de cette limite, tous les ani-

maux ont résisté au charbon, et ne sont morts que de la longue inanition à laquelle on était obligé de les soumettre pour attendre l'apparition des symptômes charbonneux.

Cette ingénieuse expérience est d'accord avec les résultats de Metchnikoff¹ pour prouver que les germes introduits dans le corps des pigeons réfractaires peuvent y conserver longtemps leur vitalité et leur virulence.

MM. Canalis et Morpurgo ne se sont pas contentés d'étudier les pigeons, ils ont aussi opéré sur les poules et les rats blancs. Sur les poules, ils ont observé, comme l'avait vu M. Pasteur, que le jeûne prolongé ne rend pas les poules plus sensibles au charbon, quand on les inocule avant de les inanitier, mais que si on fait commencer le jeûne 7, 8, 4 et même 3 jours avant de les inoculer, il y en a environ la moitié (7 sur 13) qui meurent du charbon de 3 à 11 jours après l'inoculation.

Avec les rats blancs, dont la réceptivité charbonneuse semble si variable², le jeûne paraît n'avoir aucune action bien marquée,

Si j'ajoute que MM. Canalis et Morpurgo ont aussi étudié sur des pigeons l'influence d'une ablation totale ou partielle du pancréas, et constaté que cette ablation rend ordinairement pour quelque temps les pigeons plus sensibles au charbon, on aura une idée à peu près complète d'un mémoire qui, à ses autres mérites, joint celui d'être court. C'est une qualité que les savants apprécient en général plus dans les mémoires qu'ils lisent que dans ceux qu'ils écrivent.

Dx.

ALI-COHEN. La chemotaxie comme adjuvant dans la recherche bactériologique. *Centralbl. f. Bact.*, t. VIII, p. 161.

Dans ses originales recherches sur ce qu'il a appelé la chemotaxie, Pfeffer avait trouvé les bactéries du typhus, les spirilles du choléra asiatique et ceux de Finkler-Prior peu sensibles à cette action; il en avait conclu qu'elle ne jouait aucun rôle dans les maladies provoquées par ces divers microbes. Mais il avait eu soin de subordonner cette conclusion à la découverte de substances chemotactiques nouvelles, car si dans les milieux qu'habitent ces bactéries pathogènes, il y a des substances qu'elles aiment, il faut leur en offrir d'autres qu'elles aiment mieux pour les attirer.

M. Ali-Cohen a fait un premier pas dans cette voie en montrant que

1. Ces *Annales*, n° 2, 1890.

2. Voir METCHNIKOFF, dans ces *Annales*, n° 4, 1890.

le suc de la pomme de terre, dans lequel on rencontre de la potasse et de l'asparagine, substances douées à un haut degré de la chemotaxie positive, est lui-même très actif sous ce rapport, et peut attirer les spirilles du choléra et les bacilles du typhus, alors même qu'ils sont contenus dans l'urine, le bouillon, les fèces étendues d'eau, etc.

Il opère avec des tubes capillaires de 70 μ de large environ, fermés par une extrémité et plongés par l'autre dans un liquide riche en bactéries. Ce tube, rempli au préalable de jus de pommes de terre, de façon à laisser une petite bulle d'air à l'extrémité fermée, est placé dans une auge de 2 centimètres de long et de 5 millimètres de large, creusée dans une couche de paraffine coulée sur un porte-objet. Avec une aiguille chaude on assujettit l'extrémité fermée du tube dans un des petits côtés du rectangle de paraffine, on remplit l'auge du liquide contenant les bactéries à étudier, on couvre le tout par une lamelle qu'on fixe dans la paraffine en la chauffant légèrement au moyen d'un bâton de verre chaud, et on observe au microscope.

Lorsqu'on opère ainsi avec les spirilles du choléra ou les bacilles du typhus, on constate que s'ils sont nombreux, quelques instants leur suffisent pour pénétrer en grande abondance dans le tube. Il faut plus longtemps quand ils sont moins nombreux, mais si peu qu'il y en ait, on en trouve toujours dans le capillaire quand on a laissé la préparation séjourner de 6 à 24 heures dans la chambre humide.

Ce n'est pourtant qu'à la condition que ces bactéries soient mobiles; quand elles ne le sont pas ou qu'elles ont été rendues immobiles par le chauffage, elles n'obéissent plus à l'attraction chemotactique. Mais quand, à cette masse de bactéries immobiles, on en mélange quelques-unes de mobiles, on les voit pénétrer dans le tube et on peut ainsi les séparer de leurs voisines. Le spirille du choléra a pu être séparé ainsi, en quelques instants, d'une eau impure, riche en matériaux dissous et en suspension, et qui ne contenait, en dehors de quelques spirilles du choléra, qu'une masse de bacilles immobiles.

La chemotaxie devient ainsi une méthode de condensation et d'élection qui peut quelquefois rendre des services, permettre sinon d'isoler à l'état pur, du moins de rendre prépondérante, dans le tube capillaire, telle ou telle espèce qu'on recherche dans un mélange. C'est une arme de plus dans l'arsenal de la bactériologie, arme délicate, sans doute, mais avec laquelle on apprendra rapidement à jouer comme on l'a fait avec toutes les autres.

Dx.

INSTITUT PASTEUR

STATISTIQUE¹ DU TRAITEMENT PRÉVENTIF DE LA RAGE. — SEPTEMBRE 1890.

	A		B		C	
Morsures à la tête { simples	»	»	»	4	»	»
et à la figure { multiples	»	1	»	»	»	1
Cautérisations efficaces	»	»	»	»	»	»
— inefficaces	»	»	3	»	»	»
Pas de cautérisation.	1	»	1	»	1	»
Morsures aux mains { simples	»	15	»	16	»	3
{ multiples	»	31	»	29	»	45
Cautérisations efficaces	5	»	5	»	»	»
— inefficaces	14	»	24	»	4	»
Pas de cautérisation	12	»	16	»	2	»
Morsures aux mem- { simples	»	5	»	18	»	2
bres et au tronc { multiples	»	12	»	25	»	6
Cautérisations efficaces	2	»	1	»	»	»
— inefficaces	9	»	20	»	5	»
Pas de cautérisation.	6	»	22	»	3	»
Habits déchirés.	10	»	24	»	6	»
Morsures à nu.	7	»	19	»	2	»
Morsures multiples en divers points du corps.	»	»	»	1	1	1
Cautérisations efficaces	»	»	»	»	»	»
— inefficaces	»	»	»	»	»	»
Pas de cautérisation.	»	»	»	1	1	»
Habits déchirés.	»	»	»	»	»	»
Morsure à nu.	»	»	»	»	»	»
Totaux. { Français et Algériens	29	49	74	93	13	16
{ Etrangers.	20		19		3	
	A		B		C	
TOTAL GÉNÉRAL. 158						

1. La colonne A comprend les personnes mordues par des animaux dont la rage est reconnue expérimentalement; la colonne B celles mordues par des animaux reconnus enragés à l'examen vétérinaire; la colonne C les personnes mordues par des animaux suspects de rage.

Les animaux mordeurs ont été : chiens, 141 fois; chats, 17 fois.

Le Gérant : G. MASSON.

Sceaux. — Imprimerie Charaire et fils.